

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4602975号
(P4602975)

(45) 発行日 平成22年12月22日 (2010.12.22)

(24) 登録日 平成22年10月8日 (2010.10.8)

(51) Int. Cl. F I
GO 1 N 15/14 (2006.01) GO 1 N 15/14 K
 GO 1 N 15/14 D

請求項の数 20 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2006-523430 (P2006-523430)	(73) 特許権者	501063508
(86) (22) 出願日	平成16年8月16日 (2004.8.16)		サイトノーム インコーポレーテッド
(65) 公表番号	特表2007-503572 (P2007-503572A)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ボ
(43) 公表日	平成19年2月22日 (2007.2.22)		ストン ドライドック アベニュー 27
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/026467	(74) 代理人	100064908
(87) 国際公開番号	W02005/017969		弁理士 志賀 正武
(87) 国際公開日	平成17年2月24日 (2005.2.24)	(74) 代理人	100089037
審査請求日	平成19年7月25日 (2007.7.25)		弁理士 渡邊 隆
(31) 優先権主張番号	60/495,374	(74) 代理人	100108453
(32) 優先日	平成15年8月14日 (2003.8.14)		弁理士 村山 靖彦
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100110364
(31) 優先権主張番号	10/915,016		弁理士 実広 信哉
(32) 優先日	平成16年8月9日 (2004.8.9)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 粒子分類システム用光検出器

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

粒子又は分子が流通するチャンネルアレイを有するマイクロ流体システムを観察するための光学検出システムであって、

光ビームを生成するための光源と；

複数の光学エレメントから形成される前記光ビームを集光するための一組のビーム整形光学系と；

各ピンホールが前記マイクロ流体システムの前記チャンネルアレイのマイクロ流体チャンネルに合わせられて連係するピンホールアレイと；

前記ピンホールの1つを經由して前記チャンネルの1つを前記光ビームが通過した後に生じる、光減衰及び側方散乱を受けて搬送するための、前記チャンネルアレイの前記光源と反対の側に配置された円柱状の検出用リボンと；

前記粒子が前記光ビームに交差したときに、前記チャンネルアレイ中の任意の粒子によって生成された光信号を受ける、前記チャンネルアレイの前記光源と反対の側に配置された高開口数の蛍光検出システムと；を備える、光学検出システム。

【請求項 2】

粒子又は分子が流通するチャンネルを有するマイクロ流体システムを観察するための光学検出システムであって、

光ビームを生成するための光源と；

複数の光学エレメントから形成される前記光ビームを集光するための一組のビーム整形

光学系と；

マイクロ流体チャンネルに合わせられるピンホールアレイと；

前記ピンホールの1つを經由して前記チャンネルの1つを前記光ビームが通過した後に生じる、光減衰及び側方散乱を受けて搬送するための、前記マイクロ流体システムの前記光源と反対の側に配置された少なくとも1つの円柱状の検出用リボンと；

マイクロ流体システム中の複数のチャンネルを同時に検索するとともに3つの蛍光波長バンドを同時に検出するための、前記マイクロ流体システムの前記光源と反対の側に配置された高開口数の蛍光検出システムと；を備え、

前記一組のビーム整形光学系は、前記ピンホールアレイを介して光ビームを通す、光学検出システム。

10

【請求項3】

前記光ビームを前記チャンネルアレイ内に向けるために、前記ピンホールアレイが前記光源と前記チャンネルアレイとの間に配置されていることを特徴とする請求項1に記載の光学検出システム。

【請求項4】

前記ピンホールアレイが、前記マイクロ流体システムの表面に連結されているかまたは表面上に形成されている光学マスク内に形成されていることを特徴とする請求項1に記載の光学検出システム。

【請求項5】

前記円柱状の検出用リボンが、連係するチャンネルからの光を受けるための開口第1端と、受けた光を受けて検出器に搬送するためのファイバーを受けるための開口第2端とを備えてそこに延びる開口部を備えた機械的部品であり、

20

前記円柱状の検出用リボンを通して伸びる開口部が、前記第2端から伸びるファイバーホールと、前記第1端から伸び、前記ファイバーホールと交差する円柱状のホールとを備え、前記円柱状のホールが同心であり、前記ファイバーホールより小さい直径を有することを特徴とする請求項1に記載の光学検出システム。

【請求項6】

前記開口第2端に挿入された高開口数のファイバーをさらに含むことを特徴とする請求項5に記載の光学検出システム。

【請求項7】

30

前記円柱状の検出用リボンが、前記チャンネルを通る光ビームの経路に沿って伸びる光が前記円柱状のホールへと入射するような前記光ビームの経路によって定義されるベクトルに沿って搭載されていることを特徴とする請求項6に記載の光学検出システム。

【請求項8】

前記ピンホールの開口部が約150ミクロンの直径であり、前記円柱状のホールが250ミクロンの直径であり、前記ファイバーが300ミクロンの直径であることを特徴とする請求項5に記載の光学検出システム。

【請求項9】

前記円柱状の検出用リボンが、それを通して伸びる開口部のアレイを備えた機械的部品であり、各開口部が前記マイクロ流体システムにおけるチャンネルと整列され且つ連係されていることを特徴とする請求項1に記載の光学検出システム。

40

【請求項10】

各ファイバーが円柱状の検出用リボンにおける連係された開口部内に配置されて形成されたファイバーアレイをさらに備え、各ファイバーが前記チャンネルからであり且つ前記連係された開口部において受ける光信号を検出器へと搬送するためのチャンネルと連係されていることを特徴とする請求項9に記載の光学検出システム。

【請求項11】

前記円柱状の検出用リボンを通して伸びる各開口部が、前記第2端から伸びるファイバーホールと、前記第1端から伸び、前記ファイバーホールと交差する円柱状のホールとを備え、前記円柱状のホールが同心であり、前記ファイバーホールより小さい直径を有する

50

ことを特徴とする請求項 10 に記載の光学検出システム。

【請求項 12】

前記円柱状の検出用リボンに対して角度を成して配置された第 2 円柱状の検出用リボン
をさらに含むことを特徴とする請求項 1 に記載の光学検出システム。

【請求項 13】

前記光ビームを前記チャンネルアレイ内に向けるために、前記ピンホールのアレイが前記
光源と前記チャンネルアレイとの間に配置されていることを特徴とする請求項 2 に記載の光
学検出システム。

【請求項 14】

前記円柱状の検出用リボンが、連係するチャンネルからの光を受けるための開口第 1 端と
、受けた光を受けて検出器に搬送するためのファイバーを受けるための開口第 2 端とを備
えてそこに延びる開口部を備えた機械的部品であることを特徴とする請求項 2 に記載の光
学検出システム。

10

【請求項 15】

前記円柱状の検出用リボンを通して延びる前記開口部が前記第 2 端から延びるファイバ
ーホールと、前記第 1 端から延び、前記ファイバーホールと交差する円柱状のホールとを
備え、前記円柱状のホールが同心であり、前記ファイバーホールより小さい直径を有す
ることを特徴とする請求項 14 に記載の光学検出システム。

【請求項 16】

前記円柱状の検出用リボンが、それを通して延びる開口部のアレイを備えた機械的部品
であり、各開口部が前記マイクロ流体システムにおけるチャンネルと整列され且つ連係され
ていることを特徴とする請求項 2 に記載の光学検出システム。

20

【請求項 17】

各ファイバーが円柱状の検出用リボンにおける連係された開口部内に配置されて形成さ
れたファイバーアレイをさらに備え、各ファイバーが前記チャンネルからであり且つ前記連
係された開口部において受ける光信号を検出器へと搬送するためのチャンネルと連係され
ていることを特徴とする請求項 16 に記載の光学検出システム。

【請求項 18】

前記ピンホールの 1 つを経由して前記チャンネルの 1 つを前記光ビームが通過した後に生
じる、光減衰、前方散乱、及び側方散乱の少なくともいずれか 1 つを受けるための円柱状
の前記第 1 検出用リボンに対して角度を成して配置された第 2 円柱状の検出用リボン
をさらに含むことを特徴とする請求項 2 に記載の光学検出システム。

30

【請求項 19】

前記第 1 円柱状の検出用リボンが前記チャンネルから約 45 度の角度で拡がる前方散乱を
捉え、前記第 2 円柱状の検出用リボンが前方散乱から約 90 度の角度で拡がる側方散乱を
捉え、前記高開口数の蛍光検出システムが前記第 1 円柱状の検出用リボンと前記第 2 円柱
状の検出用リボンとの間に約 90 度の円錐状の機械的自由度を有することを特徴とする請
求項 18 に記載の光学検出システム。

【請求項 20】

前記高開口数の蛍光検出システムが、連係されたチャンネルから放出される光子を回収し
且つ誘導するための少なくとも 1 つのレンズと、チャンネルにおける粒子を代表する光信号
へと光子を再生するための撮像平面と、分析のために前記光信号を検出器へと搬送するた
めの前記撮像平面から延びるファイバーアレイとを備えることを特徴とする請求項 2 に記
載の光学検出システム。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、2003 年 8 月 14 日に出願の米国特許出願第 60 / 495、374 号明細
書の米国での仮出願、2004 年 8 月 9 日に出願の米国特許出願第 XX / XXX、XXX
号明細書について優先権を主張し、その全体の内容は参照として組み入れられる。

50

本発明は、チャンネルを介して粒子の流れをモニタリングするシステム及び方法に関する。

【背景技術】

【0002】

マイクロ流体システムのような、1又は2以上のチャンネルを通して粒子を運ぶシステムにおいて、粒子をモニタリング、分析、又は検出するために、光学システムが用いられる。光学システムは、例えば、所定の特性に基づく1又は2以上のチャンネルを通して流動する粒子の流れを分類する粒子分類システムにおいて、有用である。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0003】

従来型の検出システムは、顕著な障害を有している。例えば、従来の光学検出システムは、大きい領域に亘って拡がるときに粒子上の蛍光ラベルからの低い光レベルの信号を観察することが困難であるため、しばしば不正確であり、貧弱な結果を提供している。従前の光学システムは、検出すべき光信号が例えば1ミリ秒未満の短期間である場合にも、困難である。例えば、従来型のCCD（電荷結合素子）技術は、1ミリ秒より大きいフレームレートを有している。

【0004】

マイクロチャンネル検索用の従前のシステムは、約500µm未満の領域での、単一のチャンネル上の集束光、及び、同様に限定された領域から捕捉する光をも制限する。

20

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、空間的なチャンネルアレイからの高速スペクトルを収集する（得る）ための光学システムを提供する。前記システムは、マイクロ流体粒子分析の検索、又は、1から200ミリメートルより大きい間隔の平行な流体チャンネルアレイを有する分類チップの検索に使用するために設計される。チャンネル中を流通する（運ばれる）前記粒子は、1秒当たり0.1から10メートルの速度を有し、それ故、検出器で観察される信号は、サブミリ秒の期間であっても良く、1から100メガヘルツのバンド幅の検出器及び電子機器を有する観察に要求され得る。

【0006】

30

光学検出システムは、モニタされるマイクロ流体チップ又はチャンネルを通過する光ビームを生成するための光源と、マイクロ流体チャンネル中の粒子又はケミカル（化学物質）との相互作用の後の光源から光を捉える1又は2以上のレンズ又は光ファイバーと、1又は2以上の検出器を有している。前記検出器は、光増幅エレメントを有しても良く、各光信号を検出して光信号を電気信号に変換する。前記電気信号は、各々が光信号の強度を示し、分析のため、各検出器から電子データ収集システムに通される。単数又は複数の光増幅エレメントは、フォトダイオード検出器のアレイに連結されたイメージ増幅器に基づく、フォトチューブのアレイ、マルチアノードフォトチューブ、又はマルチチャンネルプレートを備え得る。

【0007】

40

前記光学システムは、コスト的に有効であり、減衰信号と、1又は2以上の散乱信号と、1又は2以上の蛍光信号とを、1又は2以上の粒子流通チャンネルから一度に、全て低い光レベル及び高いバンド幅（>1MHz）で、同時に捉える。前記システムは、様々な条件の下で各粒子の有効かつ正確なモニタリングを提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本発明は、ここでの説明及び添付した図面から明らかになるであろう。ここで、同様の参照番号は、異なる図面を通して同一の部分を示している。

【0009】

本発明は、チャンネルのアレイを介して粒子の流れをモニタリングして検出するための光

50

学システムを提供する。本発明は、示される実施の形態に関して下記で説明されるであろう。当業者は、本発明は多数の異なる応用及び具体例を企図することができ、本出願においてここで示される特定の具体例に特に限定されないことを理解するであろう。

【0010】

図1は、本発明で示される実施の形態の実施に好適なマイクロ流体システム10を示し、粒子又はセルといった物質を運ぶための複数のチャンネルを備えている。示されたマイクロ流体システム10は、基板1に配置されるマイクロチャンネル3のような複数のチャンネルを有する基板1を備えている。前記チャンネルは、液体の試料上で任意の適した操作を処理するため、操作するため、及び/又は行うために、マイクロ流体システム10を介して流体及び/又は粒子を輸送する。本明細書では、「マイクロ流体」の語は、マイクロスケールの寸法を有する少なくとも1つのチャンネルを有する流体試料を操作するため、処理するため、放出するため、及び/又は分析するための、システム又は機器を指すものとする。本明細書で用いられる語「チャンネル」は、液体や気体といった流体の移動可能な媒体中またはこれを介して形成される通路を指す。「マイクロチャンネル」の語は、約1.0 μmから約500 μmの範囲、好ましくは約25 μmから約350 μmの範囲、最も好ましくは約50 μmから約300 μmの範囲で、断面寸法を有する好ましくはマイクロ流体システム又は機器中に形成されたチャンネルを指す。当技術分野での通常の技術の1つにより、適切なチャンネルの体積及び長さを決定することが可能であろう。前記範囲は、上述した値を上限又は下限値として含むものである。前記チャンネルは、任意に選択された形又は配置を有することができ、例えば、直線又は非直線の構成及びU字状の構成を含む。マイクロ流体システム10は、マイクロ流体システム10を介して流体を輸送するための任意の好適な数のマイクロチャンネル3を有し得る。

10

20

【0011】

本発明は、図1におけるマイクロ流体システムのような、マイクロ流体チップとともに使用するための光検出器を提供する。本発明における光検出器は、この領域におけるシステムに問い合わせを行うマイクロ流体システムにおける測定領域2中で実施され得る。本発明は、1又は2以上の検索領域2に亘る1から200のチャンネルからなる平行なチャンネルアレイとともにマイクロ流体チップを測定可能な検出システムの構築を容易にする。前記領域2は、1から250 mmの物理的な範囲を有し、好ましくは1から100 mmの範囲を有する。

30

【0012】

光検出器は、チップ中に同時に複数のチャンネルを介して流れをモニタしてもよい。光検出器又は光検出器のシステムは、通常の技術の1つで明らかな他の特性と同様に、サイズ、形状、蛍光強度光散乱、といった、1又は2以上の特性に対して、個々の粒子を検査することができる。例えば、示される実施の形態において、本発明の光検出器は、観察すべき粒子流れの100を超えるチャンネルを有する前記チップの比較的大きい領域(例えば、直径で約20ミリメートルから50ミリメートルの間のアクティブ領域)に亘って位置し得る。前記光検出器は、複数の又は全てのチャンネルで一度に発生する低い光水準の信号を、コスト効率良く迅速に捉えることができる。当業者は、光学システムが粒子又はセルの分類システムでの使用に限定されず、1又は2以上のチャンネルを介した流れをモニタするための粒子のような、基板を有する任意の好適なシステムで実施し得ることを理解するであろう。

40

【0013】

図2は、本発明で示される実施の形態での光検出システム8の全体図を示し、図1のマイクロ流体システムにおいて実施され得る。当業者は、光検出システムが任意の好適なシステムで実施することができ、図1のマイクロ流体システムに制限されないということを理解するであろう。

【0014】

光検出システム8は、マイクロ流体チップ10中の粒子アレイ搬送チャンネル3に配列されたピンホールのアレイとして示された、光マスク13を通過する光ビーム14を生成し

50

て整形するためのビーム整形光学系 1 2 に接続され、レーザとして示された光源 1 1 を備える。ピンホールに入った光は、次に、搬送チャンネル 3 自体を貫通する。1 又は 2 以上の関連するピンホールを経て各チャンネルに入った光ビームが横断する粒子 1 8 は、光信号を生成するチャンネル 3 を介して搬送される（流通する）。光ビームが粒子に交差するときの光粒子分析、サイトメトリー、分類中で生成され得る光信号の実施例は、光減衰、角度依存の光散乱及び蛍光を含む。光減衰は、相互作用せずに粒子を通過する光の量を指す。角度依存の光散乱は、入射した光ビームから散乱又はそれぞれの角度（ ）で曲げられる光の一部を指す。蛍光は、粒子中の分子に吸収されてより長い波長で再放射された光である。

【 0 0 1 5 】

検出器光学系 1 5、1 6、1 7 は、光源 1 1 からチャンネル 3 の反対側に位置しているが、チャンネル中の粒子とともに光ビームの相互作用によって生成される光信号を捉えて観察する。光減衰検出器 1 5 は、光源 1 1 に正反対の方向に配置され、光減衰を検出するために入射光路 1 4 に配列される。光散乱検出器 1 6 は、入射光ベクトル及びこれが交差するマイクロ流体チャンネルによって形成された平面中の入射光路 1 4 に実質的に垂直に位置している。前記光散乱検出器は、入射光路 1 4 に対して約 9 0 度の角度で位置することが好ましい。他の角度用の光散乱検出器は、その角度の同一平面上に任意的に配置され得る。蛍光検出サブシステム 1 7 は、蛍光からの光信号を捉える。蛍光検出サブシステム 1 7 は、光エレメントを伴う大きな高開口レンズ（アパーチャレンズ）を有する。示されるように、蛍光検出サブシステムは、出来る限り多くの蛍光フォトン捉えるためにマイクロ流体チップ 1 0 の上方に配置され、検出器（図示せず）の上で撮像する。

【 0 0 1 6 】

光検出システム 8 は、チップ 1 0 の検索領域 2 中で実施され得る。示された検索領域 2 は、2 4 のチャンネル 3 を包含しているが、当業者は、任意の好適な数のチャンネルが光検出システム 8 を用いて観察し得ることを認識するであろう。示される実施の形態において、検索領域 2 は、（各チャンネル 3 に沿った）4 mm の長さで（複数のチャンネルが横断する）約 1 0 mm の幅であるが、当業者は、本発明がこの範囲に限定されないことを認識するであろう。

【 0 0 1 7 】

レーザ 1 1 からの光 1 4 又は他の光源がチップ 1 0 上に入射したとき、粒子が流れる狭い領域を通る光だけが粒子と相互作用して光信号を生成する。チャンネル 3 の外側のチップ 1 0 を通る光、又は、粒子を含まないチャンネルの領域を通る光は、背景又はノイズのみ寄与するものであり、信号には寄与しないため、迷光となり、最小化するべきである。観察される粒子を通らずにチップを通る光は、消費されたレーザの光出力を表し、それ故コスト及び熱処理の理由から最小化すべきであることも考慮すべきである。ピンホールの層によって形成される光マスク 1 3 及びビーム整形光学系 1 2 のいずれも迷光を最小化するとともにレーザ出力を最小化する。

【 0 0 1 8 】

示されるように、光源 1 1 は入射光をチャンネル 3 に対して約 4 5 度の角度で供する。この方法において、前方散乱 / 減衰は、チャンネル 3 における反対側の同一方向に拡大する。示されるように、前方散乱 1 4 b は、チャンネル 3 から 4 5 度の角度で広がる。側方散乱 1 4 c は、入射光から約 9 0 度で広がり、機械的自由度の円錐 1 7 0 の蛍光光学系を提供する。機械的自由度の円錐 1 7 0 は、前方散乱 1 4 b 及び側方散乱 1 4 c の間での検出器に対して 9 0 度の見通しのよい眺め（視野）を提供する。

【 0 0 1 9 】

図 3 は、一対のマイクロチャンネル 3 a、3 b を有するマイクロ流体チップ 1 0 の一部を通る断面の具体例の図を示す。前記断面図は、マイクロチャンネル及びマスク 1 3 のピンホール 1 3 a、1 3 b を切断する平面中にある。入射光 1 4 は、ピンホール層 1 3 によって一部遮断され、各ピンホール 1 3 a、1 3 b によって画定された集光ビーム 1 8 に対して初期のビーム 1 4 を狭める。前記集光ビーム 1 8 は、従来型の円錐流れ（コーン流）にお

10

20

30

40

50

ける流れが許容される粒子18を中に有する領域31を照射するための各チャンネルを交差する。多くの迷光がピンホール層13によって遮断され、これはマイクロ流体チップから分離された部分であり、フォトリソグラフィ又はチップ作製における技術分野において既知の他の方法によって前記チップの表面上に作製され得る。

【0020】

マイクロ流体システムは、粒子又はセルといった、物質が流れるためのチャンネルを有する任意のシステムを備える。例えば、マイクロ流体システム10は、米国特許出願第10/179,488号明細書及び米国特許出願第10/329,008号明細書に記載されているような、粒子分類システムを備えていてもよい。これらの明細書はいずれも参照として本明細書に組み込まれている。他の好適なマイクロ流体システムは、米国特許出願第10/028,852号明細書、米国特許出願第10/027,484号明細書、米国特許出願第10/027,516号明細書、米国特許出願第10/607,287号明細書、に記載されている。これらは全て参照として本明細書に組み込まれている。

【0021】

図4は、蛍光検出サブシステム17の部材の詳細を示す図2の光検出システムの概略図を示す。蛍光検出サブシステム17は、照射された粒子から放出される光子を出来るだけ多く捉えるために構成されて配置された高開口数(低いF#、Fナンバー)の収集レンズ45を有する。レンズ45は、市場で入手可能な50mmのオフザシェルフのF#=1のレンズ及びフォーカルレンズであっても良い。一例としては、Leica Noctiluxの50mmのF#1レンズがある。より大きいレンズも利用でき、撮像する多層プレートに対して使用される。リトロ回折格子として示される分散エレメント46は、第1の収集レンズ45の上方に位置している。分散エレメント46は、特定の光線の波長に関してある程度光を曲げる。示されたリトロ回折格子46は、73mmの活性領域を有する76.2mmの直径である。リトロ回折格子46は、単位mm当たり720の溝(グループ)を有し、550nmでの43.1度のブレース角(前記格子が位置する垂直方向からの角度)を有する。図4で550nmの光が垂直方向から曲げられる角度であるリトロ角は、23.33度である。当業者は、特定の方法で光を曲げるための任意の好適な手段が本発明の教示に従って使用され得るということを認識するであろう。再生レンズ(レコンストラクションレンズ)47は、回折格子46からの一次のオーダーの回折光を捉えて撮像平面48中に照射された粒子のイメージ中で回折光を再生するためにリトロ角に位置している。

【0022】

ファイバーアレイ49は、撮像平面48から延長され、信号を分析するために検出器50に信号を伝達する。前記検出器は、カメラ又は他の好適な機器であっても良い。

【0023】

光路中にリトロ回折格子が存在することによって、マイクロチャンネル3中の照射された粒子が、より短い波長の光子よりも大きい角度に傾いたより長い波長の光子とともに平面48中に撮像され、これにより粒子が撮像平面に亘って広がるスペクトルを有する。500nmから700nmの波長を有する光子は、レンズ45、47に対して用いられる50mmのフォーカルレンズに対して前記撮像平面48中に約7841ミクロンに亘って広がる。示される実施の形態は、単位nm波長に対して39.2ミクロンのスペクトル解像度(分解能)を有する。

【0024】

光検出システム8は、サイトメトリーの技術において既知の蛍光プローブ又は他の蛍光粒子マーカーに束縛された抗体(アンチボディ)で表示された粒子を観察するために用いることができる。例えば、励起光が488nmの波長である場合、FITC(フルオレセインイソチオシアン酸塩)、PE(R-フィコエリトリン)、APC(アロフィコシアニン)、及びPerCP(ペリディニククロロフィルプロテイン複合体)の蛍光プローブに束縛された抗体で表示された粒子を用いることができ、これらの蛍光プローブは、それぞれ、530nm、575nm、630nm及び695nmで蛍光放射のピークを有する。

FITC、PE、及びPerPCは、(550nmの位置が0であるのに対して)それぞれ784ミクロン、980ミクロン、3136nm、及び5684ミクロンの位置で撮像平面上に配置される。400 μ mのホールを有し該ホール中に直径400ミクロンの光ファイバーを配置する不透明な平面により、約10nmの波長捕捉(キャプチャ)バンド幅の各ファイバー49が付与される。所望の蛍光プローブにおけるピークの放射に対応する各位置にファイバー49を配置することで、効果的かつコンパクトな多重カラー検出システムが提供される。撮像平面48中に一端部を配置されるファイバー49は、検出器に装着された他端部を有している。示される実施の形態では、ファイバーの第2の端部は、蛍光の光信号を増幅して電気信号に変換するために、シングルアノードに対応する位置で、

10

【0025】

図4において、照射されたチャンネル中で粒子を探索する前記ファイバー49は、マイクロ流体チップ中のチャンネル平面である同一平面に配置される。前記システムが多重チャンネルアレイ上で使用される場合、他のチャンネルは、示されたチャンネルの平面の正面又は示された平面の後に位置している。

【0026】

20

図5は、マイクロ流体チップ中の多重チャンネルを観察するために使用される光検出システム80の透視図を示す。光検出システム80もまた、大部分の入射光14を遮断してマイクロ流体チップの6つのチャンネルにおける各チャンネル3の小さい検出領域2を照射するピンホールアレイ13を備える。収集レンズの光コラム、リトロー回折格子及び再生レンズは、図4に示したものと同様であり、同一の実施の形態のレンズ及び回折格子の規格を有し得る。全体的に、レンズ及び回折格子のセットの部材のサイズは、検出領域(チャンネルがピンホールを介して照射される領域)のサイズよりも大きいチップ上での視野を与えるのに十分である必要がある。撮像平面48中において、6つのアレイ490を保持するプレート480が、各々4つのファイバーを備えて、位置している。4つの光ファイバー49のそれぞれのアレイは、関連するチャンネル3から放出された光スペクトルをサンプリングするために配置されている。アレイ中の各ファイバーは、1つの蛍光プローブのピーク放射位置に配置されている。高開口数のファイバー又はレンズドファイバーは、当業者に明らかであるようにここでは適切である。

30

【0027】

図6A-6Cは、90度の角度での光散乱又は減衰を検出するためのサブシステムの実施の形態を示す。この実施の形態では、光励起コラム検出器リボン63が、約500ミクロンのチャンネル間のスペースを有する多重チャンネルチップ10の上方に配置されている。光励起コラム検出器リボン63は、図6Bの断面図で示されているが、リボン厚さ63dより小さい深さで穴空けされた300ミクロンの直径のホールを有し、チャンネルスペースを有するホールを整理するために中央部に500ミクロンの間隔を有する機械的部品である。高開口数のファイバー65は、単位チャンネル当たり1つのファイバーを有する、ファイバー61のアレイを形成するために各ホール内に配置されている。ファイバーホール63cより小さいが同心の円柱状のホールが各ホール中に空けられている。この円柱状のホールは、リボンコネクタ63bを貫通し、光が前記円柱状のホールを通過して、より大きい直径のシャフト中に配置されているファイバー65の中に入ることを可能にする。このサブシステムを作動させるために、入射光68はピンホール及びチャンネルに角度40度近辺で交差して、リボンの位置で示されるように、前記光励起検出器リボン63が入射光のベクトルに沿って(つまり、入射光に対して180度の角度で)直接搭載される。円柱状のホールの開口部は、ピンホールに交差する十分に円柱化された入射光の全ての光がファイバー中の円柱状のホールの端部で検出され得るように、ピンホールの開口部より大きく

40

50

なければならない。円柱状のホール自体は、他のチャンネルからの任意の迷光を遮断するために十分な長さになるように選択される。例えば、1つの実施の形態においては、ピンホールの開口部は150ミクロンの直径であり、円柱状のホールは250ミクロンの直径であり、ファイバーは300ミクロンの直径であり、及びコリメータは、2mmのチャンネル内に配置されるが、1mmの長さである。ファイバーアレイ61の遠端で、各ファイバーはフォトチューブ又は他の光検出器に装着される。光励起は、その検出器用のフォトダイオードを使用するためにしばしば十分な明るさである。

【0028】

図6cにおいて、第2リボン66は、記載された第1のリボン63と実質的に同一に構築されているが、セル又は粒子からの90度の散乱又は側方散乱の信号を測定するのに好適な、入射光から90度の位置に配置されている。当業者は、他の散乱パラメータを観察するために他の角度に同様のリボンが配置されていても良いことを認識するであろう。興味ある特定の角度は、励起通路中の直線上の光を得ることなく前方に位置する方向（入射からほぼ180度）に近接するような全体的に大部分が前方方向での光散乱である、いわゆる前方散乱である。

【0029】

さらなる実施の形態において、光源11は、コヒーレントサファイヤ488/200レーザーであり、該レーザーは小さく、ガスレーザーチューブ放射から非常なノイズ又はノイズを生じずに、約200mwを生じる空冷の固体の機器である。あるいは、OPSS（光励起固体）レーザーが用いられ、該レーザーはモニタリングを行うために必要な全ての異なる励起波長をも生成可能である。当業者は、任意の好適な光源を用いることができることを認識するであろう。

【0030】

図7は、本発明で示される実施の形態の光検出器での使用に好適なビーム整形光学系12の一実施の形態における断面図である。光学図は、z軸に沿った光伝搬の全体的な方向とともにx-z平面中に描かれている。各点線は、前記ビームが整形光学系によってどのように操作されるかを示す光線のx-yプロファイルスケッチ14'に導かれる。前記ビームは、ほぼ直径700ミクロンのラウンドプロファイルで出力された単一のレーザー11からローパス又はバンドパスフィルタ74の後でフィルタされたビームの波長を通過する。そして、前記ビームは5mmの焦点距離と250mmの焦点距離を有する第1の対の視準レンズ73を通過して、これにより実質的に長方形のビームが生成される。そして、前記ビームは、y軸で14から100ミクロンに鮮鋭化するために、焦点距離が150nmの円筒形レンズを有する集束レンズ71を通過する。集束レンズ71の後のこの実施の形態における全体的なプロファイルは、100ミクロン毎に36mmであり、500ミクロン間隔で最大70のピンホール/チャンネルのピンホールアレイ13を照射するために用いられ得る。ピンホールは、y軸方向において約100ミクロンより小さいため、ビームの制限によって光の浪費が防止される。中央部（センター）での500ミクロン間隔のN個のピンホールチップにおいて、レーザー出力の消費を最小限にするために、x軸に沿って500xNミクロンをわずかに超えて、y軸に沿って（100ミクロンをわずかに超える）200ミクロンであることがビームにとって好ましい。そして、円柱化されて整形されたビームは、ピンホールアレイ13に交差して、マッチする（合致する）チャンネル3のアレイに交差するように間隔を有するNピンホール整形ビーム78になる。

【0031】

図7のビーム整形の実施の形態は、この設計が高速（バンド幅>10MHz）の励起、散乱、及び蛍光の同時観察を可能にすることを考慮すれば、迷光を最小限にして約10%の出力効率を許容するのに非常に有効である。

【0032】

図8は、本発明の光検出システムでの使用に好適な、溝付きの鏡に基づく反射型のビームスプリッター80を示す。前記ビームスプリッター80は、入射光ビームを複数のビームに分割するために、セグメント化されたミラー83を備えている。円柱化された入射ビ

10

20

30

40

50

ーム 8 2 は、スプリッター 8 0 に入り、入射ビームをより小さいビームのアレイ 8 4 に分割するセグメント化されたミラー 8 3 に対して入射の正しい角度（全体的に低い角度）を設定するために用いられる入射ミラー 8 1 から反射される。上述の、より小さいビームのアレイ 8 4 は、入射ビーム 8 2 に平行な上方にも延在している。

【 0 0 3 3 】

前記セグメント化されたミラー 8 3 は、反射溝の一様なアレイを備える。前記一様なアレイは、異方性のエッチングされたシリコンを有することが好ましい。あるいは、前記一様な溝のアレイは、光学仕上げをされた従来型の機械加工で作られている。他の実施の形態においては、前記一様な溝のアレイは、プラスチック材料で形成され、そして前記溝のアレイに対する反射膜で覆われている。

10

【 0 0 3 4 】

図 9 は、このようなセグメント化されたミラーの設計を導く角度及び公式を示す。入射光 8 2 は、ミラー中の各溝 8 3 a に部分的に留められており、この留められた部分は、より狭いビーム 8 4 a を作るために固定角度で反射される。第 2 の狭いビーム 8 4 b は、隣接する溝 8 4 b で形成される。各溝は、溝スペース A で隔離されており、前記スプリッターは（一様な溝を想定して）一様なスポット幅のビーム、及び、マイクロ流体チップ中のピンホールとチャンネルスペースとを合わせるように設計されるレーンスペース L のビームを生成している。

【 0 0 3 5 】

図 1 0 は、レーンスペース L が 5 0 0 ミクロンであり、溝（固定溝角度 $e = 54.74$ である）がシリコン異方性エッチングで作製される図 8 のビームスプリッターの実施の形態におけるテーブルである。前記テーブルは、選択されたスポットサイズに対する好適なミラー構造を示す。例えば、1 0 0 ミクロンスポットサイズの場合は、1 0 0 ミクロン未満のピンホールに対して好適であるが、溝スペース A = 5 7 5 ミクロン、溝傾斜角 $G = 29.7$ 度、及び入射角 $I = 25$ 度に対応する。

20

【 0 0 3 6 】

図 1 1 は、光学検出システムでの使用に好適なビーム整形サブシステム 1 1 2 の実施の形態を描く。示されるビーム整形サブシステム 1 1 2 は、図 7 で説明されたビーム整形光学系 1 2 に類似のビーム整形光学系 1 2 を用いた後の最終ステージにおいて、図 8 に示したような、セグメント化されたミラー 8 0 の使用に好適である。

30

【 0 0 3 7 】

他の実施の形態では、光学システム上に個々に搭載されるのではなく、各マイクロ流体チップ上に作製されるピンホールアレイ 1 3 を備える。

【 0 0 3 8 】

図 4 及び図 5 の撮像平面中で使用されるファイバーアレイ用の検出器についての他の実施の形態では、前記平面中にイメージ増強器が配置され、発光体上に生成される光信号を読み出す前記イメージ増強器の後にファイバーが配置される。このような代換例は、全ての蛍光信号、及びポストイメージ増強器で光信号を電気信号に変換するためのフォトダイオードに対して 1 つの光増幅エレメント（イメージ増強器）のみを用いることでコストを低減し得る。

40

【 0 0 3 9 】

図 1 2 は、標準的な浜松製のイメージ増強器 2 2 0 の図面を示すが、当業者は、この代換として任意の大きい領域の高い空間分解能を有する光増幅部材を使用し得ることを認識するであろう。前記イメージ増強器 2 2 0 は、信号をフォトダイオードアレイ又は他の好適な検出機器に渡す前に光学イメージを増幅するために用いられる。示されるように、前記イメージ増強器は、撮像信号に対する入力ウインドウ 2 2 1、光を光電子に変換するフォトカソード 2 2 2 のような光感知電子エミッタ、電子増倍のための MCP 2 2 3、電子を光に変換する発光体スクリーン 2 2 4、ファイバー光プレートとして示した出力ウインドウ 2 2 5 を備える。この示される実施の形態によれば、イメージ増強器は、2 5 mm から 4 0 mm の浜松製のイメージ増強器を備え得るが、当業者は、任意の好適な機器が使用

50

され得ることを認識するであろう。

【0040】

ビーム成型サブシステム12及び蛍光検出サブシステム17の両方についての他の実施の形態は、蛍光検出システムの場合における迷光又は不要光を除去するため、又は、光源11から放射される光から迷光又は不要光の波長成分を除去するため、ショートパスフィルタ、又は、ロングパスフィルタ、又は、波長バンドパスフィルタ、又は、バンド遮断フィルタ、を備える。

【0041】

減衰又は散乱検出器15、16についての他の実施の形態では、これらの信号を標準化するために、独立したレーザー出力モニタを前記システムに追加する。この構成は、レーザー上のノイズがこれらの信号に対してゆがめられるように、これらの信号のいずれもがレーザー出力に直接比例するため、有用である。

10

【0042】

検出器15、16及び17とともに使用されるファイバーアレイについての他の実施の形態では、各ファイバーアレイをフォトダイオード又はアバランシェフォトダイオード又は他の光検出器アレイで置き換えている。当業者は、サンプルの光水準要求と、使用される特定のチップの具体例におけるフォームファクタ（波形率）とを合わせる他の検出器も可能であることを認識するであろう。

【0043】

ビームスプリッターに対する他の実施の形態では、異方性エッチング結晶材料又は従来型の機械加工金属、又は、適切な光学研磨又は反射コーティングが続くプラスチック成型で作製される反射型の溝アレイを使用し得る。

20

【0044】

この発明の全ての実施の形態において、ピンホールアレイは、全体的にマイクロ流体チャネルの間隔に合わせられる。反射型のビームスプリッターがビーム成型光学系で 사용되는場合、前記ピンホールとも合わせられなければならない。

【0045】

最も単純な実施例では、一様に配列されたチャネル及び一様に配列されたピンホール及び分割ビーム（ビームスプリッティング）中に出来るだけ一様に配置された溝を用いるが、このことが本発明では必ずしも必要ではなく、同様の実施の形態は不規則な間隔又はチャネルパターンを用いて設計され得る。

30

【0046】

蛍光検出サブシステムA7に対する他の実施の形態では、撮像平面（3-5）、（2-8）中のファイバーの前又は後にナローバンドパスフィルタを追加している。前記平面中の400ミクロンのファイバーは、10nmのバンド幅を捉えうる。10nm又は5nmのバンドパスフィルタは、いくつかの場合に感度を向上してノイズを減少させるであろう。

【0047】

本発明は、示された実施の形態に対して説明されてきた。一定の変形が、本発明の範囲から離れることなく、上述の構成で行われ得る。上述の説明に含まれ、又は、添付の図に示される全ての事柄は、例示的に解釈され、限定的な意味ではないことが意図されている。

40

【0048】

特許請求の範囲は、ここで説明された本発明における全ての一般的及び特定の特色と、言語の問題として、それらの間に収まるように言及され得る、本発明の範囲の全ての記述をカバーするものであることも理解されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【0049】

【図1】粒子の流れを運ぶための複数のチャネルを有するシステムを示し、実施に好適な本発明で示される実施の形態である。

50

【図 2】本発明における光検出システムの概略図である。

【図 3】マイクロチャンネルに垂直な平面中の 1 つのマクロチャンネルを貫通する断面図を示す。

【図 4】本発明の光検出システムの概略図であり、蛍光検出器の部材の詳細を示す。

【図 5】マイクロ流体システムの複数のチャンネル中の粒子分析用に適した光検出システムを示す。

【図 6 A】図 2 の光検出システム中で 90 度又は消光角で光散乱検出用サブシステムの実施の形態を示す。

【図 6 B】図 2 の光検出システム中で 90 度又は消光角で光散乱検出用サブシステムの実施の形態を示す。

【図 6 C】図 2 の光検出システム中で 90 度又は消光角で光散乱検出用サブシステムの実施の形態を示す。

【図 7】図 2 の光検出システムでの使用に好適なビーム整形光学系の概略図である。

【図 8】本発明における光検出システムでの使用に好適なセグメント化されたミラーを示す。

【図 9】図 8 のセグメント化されたミラーにおける溝の部分図である。

【図 10】対応するスポットの幅に基づくセグメント化されたミラーにおける溝に対する異なる配置を示すテーブルである。

【図 11】本発明で示される実施の形態の光検出システムでのセグメント化されたミラーを用いるビーム整形光学系の概略図である。

【図 12】本発明で示される実施の形態の光検出システムでの使用に好適なイメージ増強器を示す。

【符号の説明】

【 0 0 5 0 】

- 1 基板
- 2 測定領域
- 3 マイクロチャンネル
- 8 光検出システム
- 10 マイクロ流体システム
- 11 光源
- 12 ビーム整形光学系
- 13 光マスク
- 14 光ビーム
- 15 検出器光学系
- 16 検出器光学系
- 17 検出器光学系

10

20

30

【図1】

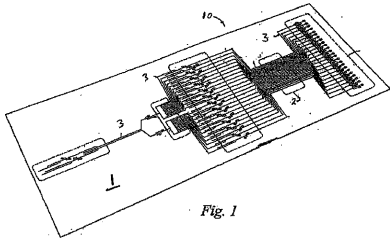
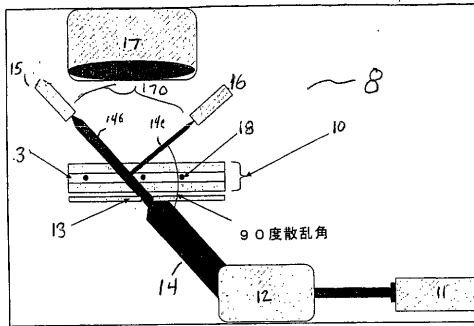


Fig. 1

【図2】

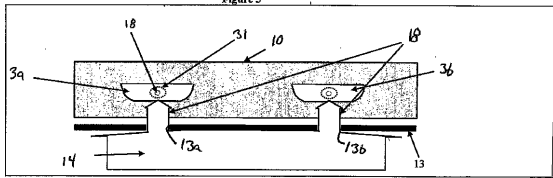
Figure 2



90度散乱角

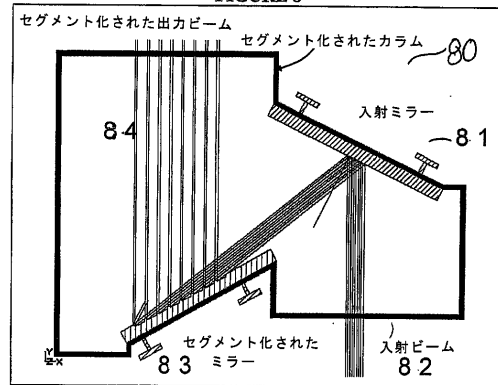
【図3】

Figure 3



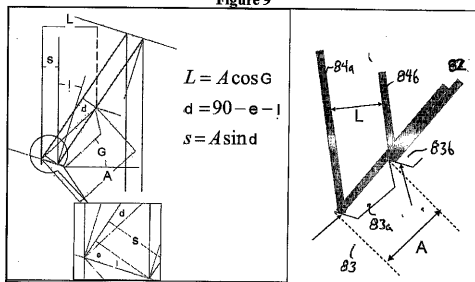
【図8】

FIGURE 8



【図9】

Figure 9



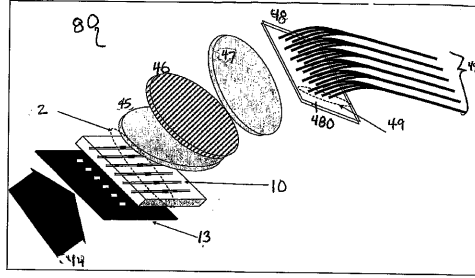
$$L = A \cos G$$

$$d = 90 - e - l$$

$$s = A \sin d$$

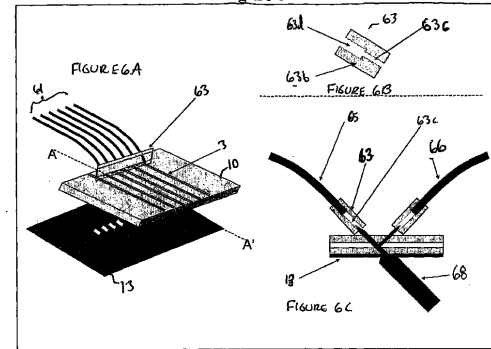
【図5】

FIGURE 5



【図6】

Figure 6



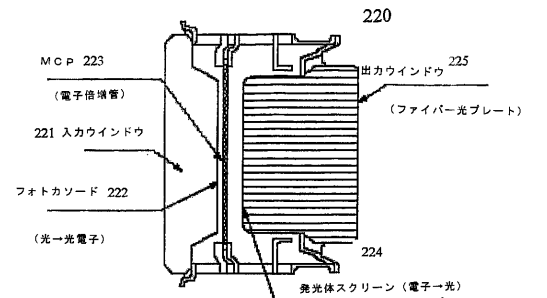
【図10】

Figure 10

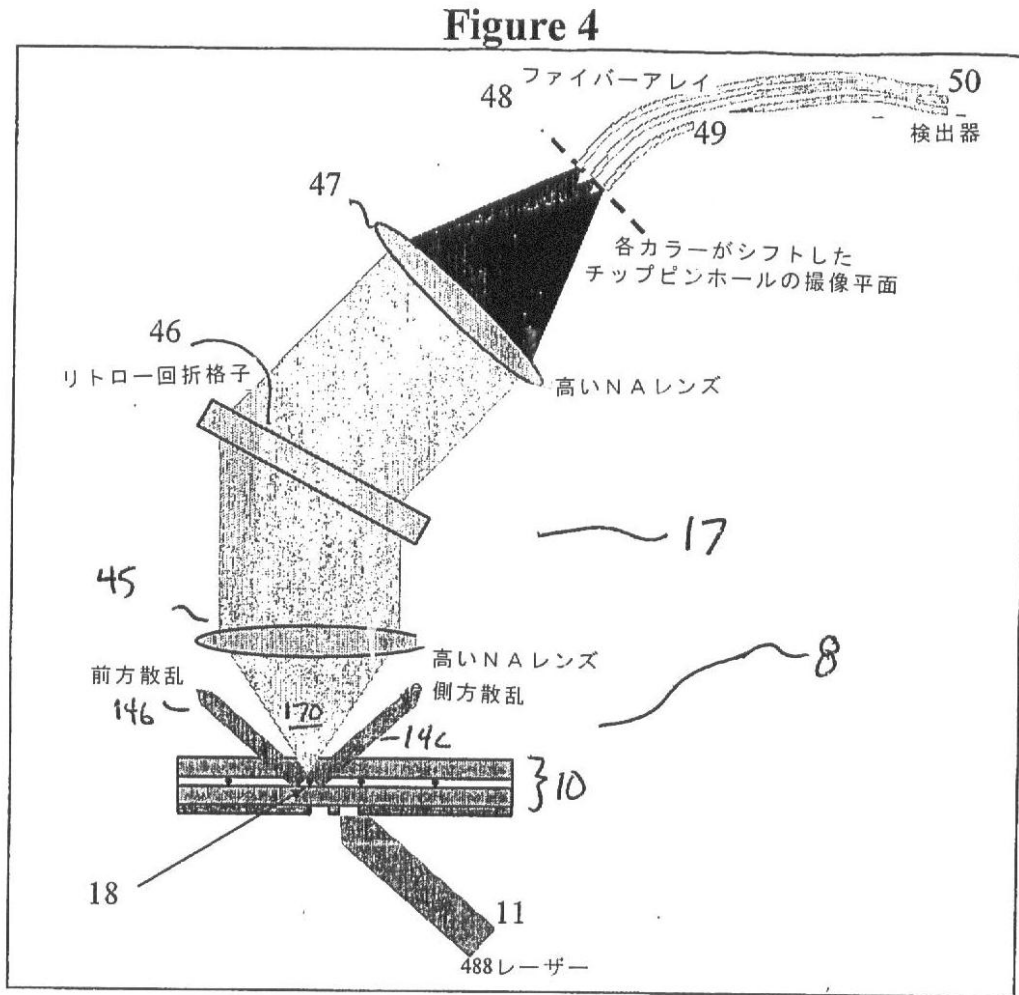
スポット幅	溝スペース	溝傾斜角、G	入射角 I
30	540	22.6	32.2
50	550	24.7	30.1
70	560	27.2	27.9
100	575	29.7	25

【図12】

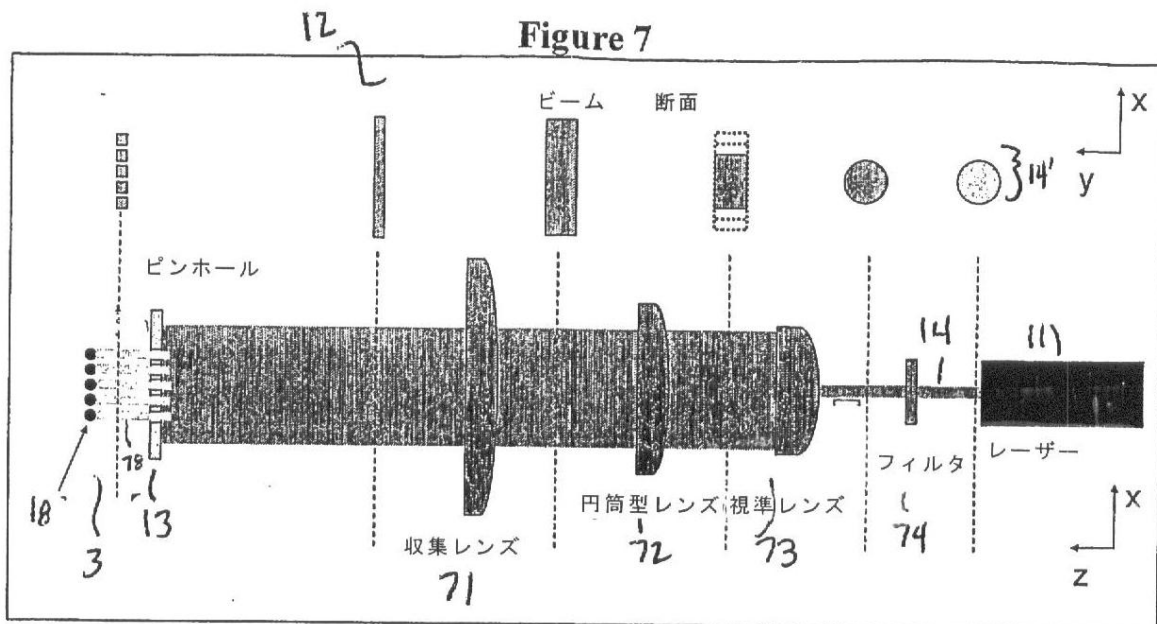
FIGURE 12



【図4】

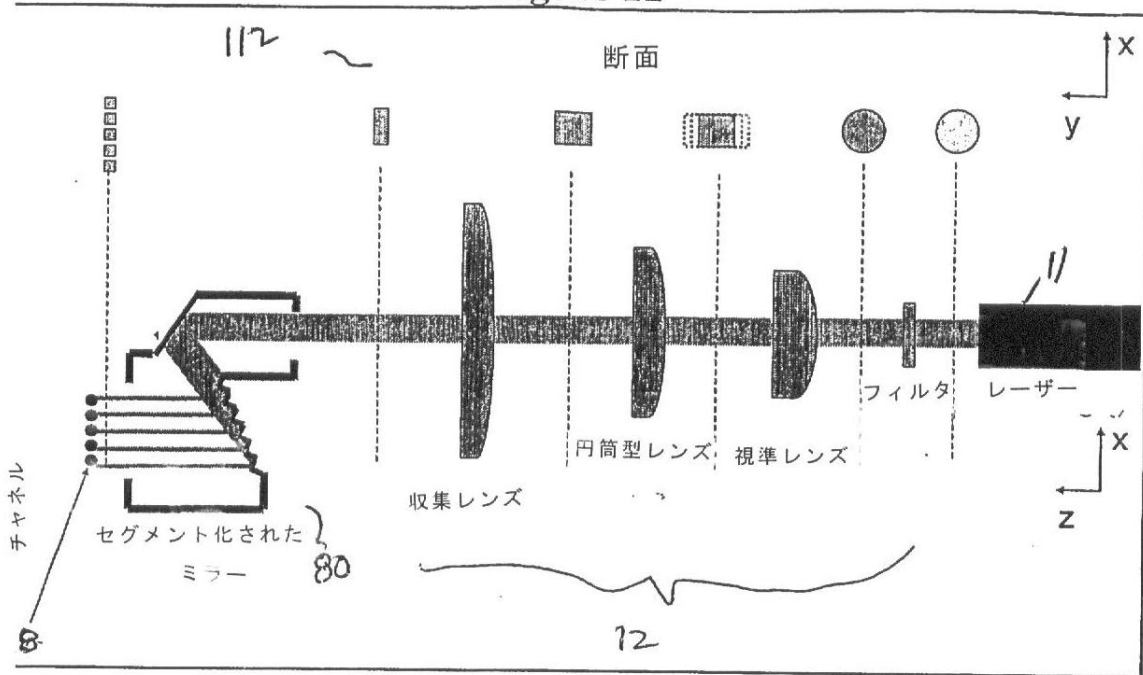


【図7】



【図11】

Figure 11



フロントページの続き

- (72)発明者 ジョン・アール・ギルバート
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02446・ブルックライン・ネーブルズ・ロード・69
- (72)発明者 エド・サイノフスキー
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02638・デニス・ウィッティアー・ドライブ・152
- (72)発明者 マニッシュ・デシュバンド
アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02021・キャントン・アップル・プロッサム・ウェイ・
34

審査官 渡 辺 純也

- (56)参考文献 国際公開第00/006996(WO, A1)
国際公開第01/002846(WO, A1)
特開平07-167798(JP, A)
米国特許第06361672(US, B1)
特開平07-286953(JP, A)
特開2001-108684(JP, A)
特開昭60-153023(JP, A)
特表2002-526790(JP, A)
特開2001-249013(JP, A)
特開平05-297318(JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G01N 15/00 ~ 15/14