

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02014/024556

発行日 平成28年7月25日 (2016. 7. 25)

(43) 国際公開日 平成26年2月13日 (2014. 2. 13)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 15/14 (2006.01)</b>	GO 1 N 15/14 A	2 G 0 5 9
<b>GO 1 N 21/21 (2006.01)</b>	GO 1 N 15/14 D	
	GO 1 N 21/21 Z	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 25 頁)

出願番号 特願2014-529338 (P2014-529338)	(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
(21) 国際出願番号 PCT/JP2013/065586	
(22) 国際出願日 平成25年6月5日 (2013.6.5)	
(31) 優先権主張番号 特願2012-175214 (P2012-175214)	(74) 代理人 100112874 弁理士 渡邊 薫
(32) 優先日 平成24年8月7日 (2012.8.7)	
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	(72) 発明者 新田 尚 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) 2G059 AA05 BB04 BB09 DD12 EE02 EE05 EE07 JJ05 JJ06 JJ11 JJ19 JJ22 KK02 KK04 MM01 MM10 PP04

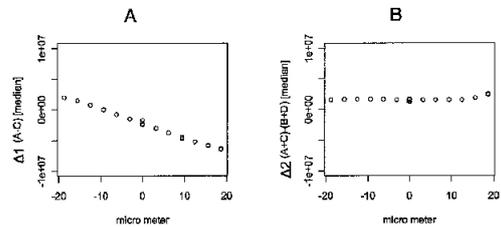
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法と微小粒子分析方法及び微小粒子測定装置

(57) 【要約】

データの信頼性を担保するため、流路中のラミナーフローの送液状態を自動的に判定可能な技術の提供。

ラミナーフローに光を照射する照射手順と、前記ラミナーフローから発生する散乱光から分離され、非点収差を与えられたS偏光成分を検出器により受光し、該検出器における前記S偏光成分の受光位置情報を取得する位置検出手順と、前記受光位置情報に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する判定手順と、を含む微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法を提供する。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

ラミナーフローに光を照射する照射手順と、  
前記ラミナーフローから発生する散乱光から分離され、非点収差を与えられた S 偏光成分を検出器により受光し、該検出器における前記 S 偏光成分の受光位置情報を取得する位置検出手順と、

前記受光位置情報に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する判定手順と、  
を含む微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法。

## 【請求項 2】

前記位置検出手順において、前記検出器として、受光面が複数領域に分割された検出器を用いる請求項 1 記載のラミナーフローモニタリング方法。 10

## 【請求項 3】

前記位置検出手順において、前記検出器として、受光面が領域 A、領域 B、領域 C、領域 D の 4 つの領域に格子状に分割された検出器を用い、

前記受光位置情報として、前記領域 A と、前記領域 A に隣接しない前記領域 C と、の検出値の差分 1 ( A - C ) を取得する請求項 2 記載のラミナーフローモニタリング方法。

## 【請求項 4】

前記受光位置情報として、前記領域 A と前記領域 C の検出値の和 ( A + C ) と、前記領域 B と前記領域 D の検出値の和 ( B + D ) と、の差分 2 ( ( A + C ) - ( B + D ) ) を取得する請求項 3 記載のラミナーフローモニタリング方法。 20

## 【請求項 5】

前記判定手順において、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する請求項 4 記載のラミナーフローモニタリング方法。

## 【請求項 6】

前記判定手順において、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する請求項 5 記載のラミナーフローモニタリング方法。

## 【請求項 7】

前記判定手順において、前記所定範囲を外れた前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 の取得頻度が所定頻度を超えた場合に、前記ラミナーフローを異常と判定する請求項 6 記載のラミナーフローモニタリング方法。 30

## 【請求項 8】

前記位置検出手順において、前記検出器として、4 分割フォトダイオードを用いる請求項 7 記載のラミナーフローモニタリング方法。

## 【請求項 9】

微小粒子を含む前記ラミナーフローから発生する光を検出する光検出手順と、  
該光検出手順において取得された前記光の強度情報に基づき、前記微小粒子の光学特性の分析結果を得る解析手順と、を含み、

請求項 6 ~ 8 のいずれか一項に記載のラミナーフローモニタリング方法を実施する手順と、 40

を含み、  
前記解析手順において、前記ラミナーフローが正常と判定された間に取得された前記強度情報のみを抽出して前記分析結果を得る微小粒子分析方法。

## 【請求項 10】

ラミナーフローに光を照射する光照射部と、  
前記ラミナーフローから発生する散乱光を S 偏光成分と P 偏光成分とに分離する第一分光素子と、

前記 S 偏光成分を受光する S 偏光検出器と、

前記第一分光素子と前記 S 偏光検出器との間に配設され、前記 S 偏光成分に非点収差を与える非点収差素子と、

前記 S 偏光検出器からの出力を受けて前記 S 偏光成分の受光位置情報を取得し、該受光位置情報に基づいて前記ラミナーフローの状態を判定する判定部と、  
を備える微小粒子測定装置。

【請求項 1 1】

前記 S 偏光検出器は、受光面が領域 A、領域 B、領域 C、領域 D の 4 つの領域に格子状に分割され、

前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域 A と、前記領域 A に隣接しない前記領域 C と、の検出値の差分 1 ( A - C ) を取得する請求項 1 0 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 1 2】

前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域 A と前記領域 C の検出値の和 ( A + C ) と、前記領域 B と前記領域 D の検出値の和 ( B + D ) と、の差分 2 ( ( A + C ) - ( B + D ) ) を取得する請求項 1 1 記載の微小粒子測定装置。

10

【請求項 1 3】

前記判定部は、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する請求項 1 2 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 1 4】

前記判定部は、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する請求項 1 3 記載の微小粒子測定装置

20

【請求項 1 5】

出力部を備え、

前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に関する情報を前記出力部に画像表示する請求項 1 4 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 1 6】

前記判定部による前記ラミナーフローの異常判定を前記出力部により提示する請求項 1 5 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 1 7】

前記判定部により前記ラミナーフローの異常が判定された場合、自動停止する請求項 1 6 記載の微小粒子測定装置。

30

【請求項 1 8】

前記非点収差素子がシリンドリカルレンズである請求項 1 7 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 1 9】

前記ラミナーフローから発生する光を前記散乱光と蛍光に分離する第二分光素子と、前記 P 偏光成分を検出する P 偏光検出器と、

前記蛍光を検出する蛍光検出器と、

を備える請求項 1 8 記載の微小粒子測定装置。

【請求項 2 0】

前記蛍光を分光する第三分光素子を備え、

前記蛍光検出器には、前記第三分光素子により分光された前記蛍光を検出する、複数の独立した受光素子が配列されている請求項 1 9 記載の微小粒子測定装置。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本技術は、微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法と微小粒子分析方法及び微小粒子測定装置に関する。より詳しくは、微小粒子測定装置において、フローセル及びマイクロチップなどに形成された流路中のラミナーフローの送液状態を判定して送液の異常を検知するラミナーフローモニタリング方法等に関する。

【背景技術】

【0002】

50

フローセル及びマイクロチップなどに形成された流路内に微小粒子を含むラミナーフローを形成し、ラミナーフロー中の微小粒子に光を照射して微小粒子から発生する蛍光及び散乱光を検出する微小粒子測定装置が知られている。例えばフローサイトメータでは、検出される蛍光又は散乱光の強度又はスペクトルに基づいて細胞及びビーズなどの微小粒子の光学特性を測定し、分析できる。

#### 【0003】

微小粒子測定装置では、流路の概ね中央に微小粒子が通流するようにラミナーフローを形成している。この手段としては、シースフローを形成して微小粒子を含む液体を流路中央にフォーカスさせる方法や、音のエネルギーで微小粒子を流路中心に集約させるアコースティック・フォーカシング法、及びこれらの組み合わせによる方法などが挙げられる。しかし、流路中にゴミや泡が混入するとラミナーフローに乱れが生じ、個々の微小粒子の流路内の通流位置にばらつきが生じて正確な測定が行えず、データの信頼性に問題を生じる場合があった。また、流路中に混入したゴミや泡からの発生するノイズがデータの精度を低下させる場合があった。

10

#### 【0004】

本技術に関連して、特許文献1及び特許文献2には、流路内の微小粒子の通流位置のばらつきによる測定誤差を抑制するための技術が開示されている。特許文献1に記載の流動粒子分析装置では、前方散乱光、側方散乱光又は後方散乱光から光分割器を介して取り出した検出光(散乱光)を、4分割フォトダイオード及びエリアCCDなどによって検出している。そして、その検出位置から、励起光の中心とシースフローの中心との位置ずれを検出し、この位置ずれが所定の範囲内に入るようにフローセルの位置を調節している。また、特許文献2には、微小粒子から発生する散乱光に生じる偏向角変化を利用して微小粒子の位置情報を検出し、フローセルの位置又は励起光の焦点位置を調整する技術が記載されている。

20

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0005】

【特許文献1】特開平9-166541号公報

【特許文献2】特開2011-149822号公報

#### 【発明の概要】

30

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0006】

本技術は、データの信頼性を担保するため、流路中のラミナーフローの送液状態を自動的に判定可能な技術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】

#### 【0007】

上記課題解決のため、本技術は、ラミナーフローに光を照射する照射手順と、前記ラミナーフローから発生する散乱光から分離され、非点収差を与えられたS偏光成分を検出器により受光し、該検出器における前記S偏光成分の受光位置情報を取得する位置検出手順と、前記受光位置情報に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する判定手順と、を含む微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法を提供する。

40

前記位置検出手順では、前記検出器として、受光面が複数領域に分割された検出器が用いられてもよい。より具体的には、前記位置検出手順では、前記検出器として、受光面が領域A、領域B、領域C、領域Dの4つの領域に格子状に分割された検出器を用い、前記受光位置情報として、前記領域Aと、前記領域Aに隣接しない前記領域Cと、の検出値の差分1(A-C)を取得してもよい。また、併せて、前記受光位置情報として、前記領域Aと前記領域Cの検出値の和(A+C)と、前記領域Bと前記領域Dの検出値の和(B+D)と、の差分2((A+C)-(B+D))を取得する。前記検出器として、4分割フォトダイオードが好適に用いられる。

本技術に係るラミナーフローモニタリング方法では、前記判定手順において、取得され

50

た差分 1 及び / 又は前記差分 2 に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定することができる。より具体的には、前記判定手順において、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する。より好ましくは、前記所定範囲を外れた前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 の取得頻度が所定頻度を越えた場合に、前記ラミナーフローを異常と判定する。

このラミナーフローモニタリング方法は、微小粒子を含む前記ラミナーフローから発生する光を検出する光検出手順と、該光検出手順において取得された前記光の強度情報に基づき、前記微小粒子の光学特性の分析結果を得る解析手順と、を含み、前記解析手順において、前記ラミナーフローが正常と判定された間に取得された前記強度情報のみを抽出して前記分析結果を得る微小粒子分析方法への応用が可能である。

10

#### 【0008】

また、本技術は、ラミナーフローに光を照射する光照射部と、前記ラミナーフローから発生する散乱光を S 偏光成分と P 偏光成分とに分離する第一分光素子と、前記 S 偏光成分を受光する S 偏光検出器と、前記第一分光素子と前記 S 偏光検出器との間に配設され、前記 S 偏光成分に非点収差を与える非点収差素子と、前記 S 偏光検出器からの出力を受けて前記 S 偏光成分の受光位置情報を取得し、該受光位置情報に基づいて前記ラミナーフローの状態を判定する判定部と、を備える微小粒子測定装置も提供する。前記非点収差素子にはシリンドリカルレンズが好適に用いられる。

この微小粒子測定装置では、前記 S 偏光検出器は、受光面が領域 A、領域 B、領域 C、領域 D の 4 つの領域に格子状に分割され、前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域 A と、前記領域 A に隣接しない前記領域 C と、の検出値の差分 1 (A - C) を取得してもよい。また、併せて、前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域 A と前記領域 C の検出値の和 (A + C) と、前記領域 B と前記領域 D の検出値の和 (B + D) と、の差分 2 ((A + C) - (B + D)) を取得してもよい。

20

本技術に係る微小粒子測定装置において、前記判定部は、取得された差分 1 及び / 又は前記差分 2 に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定してもよい。より具体的には、前記判定部は、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定してもよい。

30

本技術に係る微小粒子測定装置は、出力部を備え、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に関する情報を前記出力部に画像表示するよう構成されることが好ましい。また、本技術に係る微小粒子測定装置は、前記判定部による前記ラミナーフローの異常判定を前記出力部により提示したり、前記判定部により前記ラミナーフローの異常が判定された場合、自動停止するようにしたりされることが好ましい。

本技術に係る微小粒子測定装置は、前記ラミナーフローから発生する光を前記散乱光と蛍光に分離する第二分光素子と、前記 P 偏光成分を検出する P 偏光検出器と、前記蛍光を検出する蛍光検出器と、を備えていてもよい。また、本技術に係る微小粒子測定装置は、前記蛍光を分光する第三分光素子を設け、前記蛍光検出器に、前記第三分光素子により分光された前記蛍光を検出する、複数の独立した受光素子を配列することで、スペクトル型微小粒子測定装置として構成できる。

40

#### 【0009】

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。

#### 【0010】

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

50

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、データの信頼性を担保するため、流路中のラミナーフローの送液状態を自動的に判定可能な技術が提供される。

10

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】本技術に係る微小粒子測定装置の測定部の構成を説明するための図である。

【図2】S偏光検出器51の受光面の構成を説明するための図である。

【図3】流路Cを通流するラミナーフローLと、ラミナーフローLに照射される励起光1のレーザスポットSを説明するための図である。

【図4】微小粒子Pの通流位置をZ軸方向に移動させたときの差分1及び差分2の変化を例示するグラフである。

【図5】微小粒子Pの通流位置をX軸方向に移動させたときの差分1及び差分2の変化を例示するグラフである。

20

【図6】差分1及び差分2から微小粒子PのZ軸方向及びX軸方向における位置情報をマイクロメートル単位で算出するための算出直線を例示するグラフである。

【図7】微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフである。

【図8】微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフである。

【図9】微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフである。

【図10】微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフである。

【図11】微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフである。

【図12】通流位置が原点から一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフである。

【図13】通流位置が原点から一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフである。

30

【図14】通流位置が原点から一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフである。

【図15】通流位置が原点から一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフである。

【図16】通流位置が原点から一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフである。

【図17】光検出部の変形例の構成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】

40

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. 微小粒子測定装置の構成

(1) 測定部

(1-1) 光照射部

(1-2) 光検出部

(2) 判定部

(3) 出力部

50

## 2. 微小粒子側手装置におけるラミナーフローモニタリング処理

### (1) 受光位置検出ステップ

### (2) 判定ステップ

### (3) 異常検出時の動作

## 3. 変形例

### (1) 光検出部

### (2) S偏光検出器

## 4. ラミナーフローモニタリング方法及びラミナーフローモニタリングプログラム

### 【0014】

10

#### 1. 微小粒子測定装置の構成

##### (1) 測定部

図1は、本技術に係る微小粒子測定装置の測定部の構成を説明する図である。本技術に係る微小粒子測定装置は、大略、図に示される測定部と、不図示の判定部とから構成されている。微小粒子測定装置は、測定部及び判定部等を制御するための、CPU等を含む制御部を設けてもよい。測定部は、流路Cを通流するラミナーフローに励起光1を照射する光照射部と、ラミナーフローから発生する散乱光2及び蛍光3を検出する光検出部と、を含む。図中符号Pは、ラミナーフロー中に含まれる微小粒子を示している。

### 【0015】

##### (1-1) 光照射部

光照射部は、励起光1を出射する光源11と、フローセル及びマイクロチップなどに形成された流路Cを通流するラミナーフローに対して励起光11を集光する対物レンズ11とを含んで構成されている。光源11は、測定の目的に応じてレーザダイオード、SHG (Second Harmonic Generation) レーザ、固体レーザ、ガスレーザ及び高輝度LED (Light Emitting Diode: 発光ダイオード) などから適宜選択される。光照射部には、必要に応じて、光源11及び対物レンズ12以外の光学素子が配されていてもよい。

20

### 【0016】

##### (1-2) 光検出部

光検出部は、集光レンズ21、分光素子22, 23, 31、蛍光検出器32、P偏光検出器41、S偏光検出器51及び非点収差素子52を含んで構成されている。

30

### 【0017】

集光レンズ11は、励起光1を照射されたラミナーフロー及び/又はラミナーフロー中の微小粒子Pから発生する散乱光2及び蛍光3を集光する。散乱光2は、前方散乱光、側方散乱光、レイリー散乱及びミー散乱などの各種散乱光であってよい。また、蛍光3は、微小粒子Pそのものから発生する蛍光又は微小粒子Pに標識された蛍光物質から発生する蛍光であってよい。

### 【0018】

分光素子22は、集光レンズ11により集光された散乱光2と蛍光3とを分離する。分光素子22には、特定波長の光のみを反射し、それ以外の波長成分を透過するダイクロックミラーが用いられ、本実施形態に係る微小粒子測定装置では、散乱光2を反射し、蛍光3を透過するものが使用されている。

40

### 【0019】

分光素子31は、プリズム及びグレーティングミラーなどとされ、分光素子22により分離された蛍光3をさらに分光して蛍光検出器32に投影する。蛍光検出器32は、分光素子22により分光された蛍光3を検出する。蛍光検出器32には、複数の独立した受光素子が配列されており、各受光素子が蛍光3のうち分光素子31から分光されて投影されてくる波長域の光を検出する。本実施形態に係る微小粒子測定装置では、蛍光検出器32として、受光素子として32チャンネルのPMT (photo multiplier tube) を一次元に配列したPMTアレイを用いている。蛍光検出器32は、検出された蛍光3の強度情報を電気信号に変換して演算部に出力する。演算部では、電気信号に基づいて微小粒子Pの蛍光

50

特性の解析が行われる。なお、蛍光検出器 3 2 として、フォトダイオードアレイや、CCD 及び CMOS などの 2 次元受光素子を用いてもよい。

【0020】

分光素子 3 1 と組み合わせて、受光素子アレイ又は 2 次元受光素子を蛍光検出器 3 2 に用いることにより、微小粒子 P から発生する蛍光 3 をスペクトルとして取得することができる。

【0021】

P 偏光検出器 4 1 は、分光素子 2 2 により分離された散乱光 2 に含まれる P 偏光成分 4 を検出する。P 偏光検出器 4 1 には、例えば PD (Photo diode)、CCD (Charge Coupled Device) 又は PMT (Photo-Multiplier Tube) などを使用することができる。P 偏光検出器 4 1 は、検出された P 偏光成分 4 の強度情報を電気信号に変換して演算部に出力する。演算部では、電気信号に基づいて微小粒子 P の散乱光特性の解析が行われる。P 偏光成分 4 の強度情報からは、微小粒子 P の大きさ、内部構造等に関する分析を行うことができる。

10

【0022】

分光素子 2 3 は、入射する非偏光を、振動方向が直交する 2 つの偏光に分離するものであり、分光素子 2 2 により分離された散乱光 2 を P 偏光成分 4 と S 偏光成分 5 とに分離する。具体的には、分光素子 2 3 は、入射した散乱光 2 のうち P 偏光成分 4 を透過し、S 偏光成分 5 を反射する。

20

【0023】

S 偏光検出器 5 1 は、分光素子 2 3 により分離された S 偏光成分 5 を検出するものであり、その受光面が複数の領域に分割されている。本実施形態に係る微小粒子測定装置では、図 2 に示すように、受光面が領域 A、領域 B、領域 C、領域 D の 4 つの領域に格子状に分割された 4 分割フォトダイオードを用いている。

【0024】

非点収差素子 5 2 は、分光素子 2 3 と S 偏光検出器 5 1 との間に配設されたシリンドリカルレンズであり、S 偏光検出器 5 1 へ向かって透過する S 偏光成分 5 に非点収差を与える。S 偏光検出器 5 1 の検出信号は判定部に出力される。判定部は該出力を受けて、非点収差を生じた S 偏光成分 5 の S 偏光検出器 5 1 の受光面における受光位置に関する情報 ( 受光位置情報 ) を取得する。S 偏光成分 5 の S 偏光検出器 5 1 の受光面における受光位置 ( 結像パターン ) については詳しく後述する。

30

【0025】

( 2 ) 判定部

判定部は、S 偏光検出器 5 1 の受光面における S 偏光成分 5 の受光位置情報に基づいて流路 C を通流するラミナーフローの状態を判定する処理を行う。判定部は、この処理を実行するためのプログラムと OS が格納されたハードディスク、CPU 及びメモリなどにより構成される。

【0026】

( 3 ) 出力部

また、本技術に係る微小粒子測定装置は、ラミナーフローの状態及びその判定結果をユーザに提示する出力部を備える。出力部には、ディスプレイやプリンタ、スピーカなどの従来公知の出力装置が用いられる。

40

【0027】

2 . 微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法

次に、判定部によるラミナーフローの送液状態の判定処理について説明する。

【0028】

( 1 ) 受光位置検出ステップ

判定部は、まず、S 偏光検出器 5 1 の受光面における S 偏光成分 5 の受光位置情報に基づいて、S 偏光検出器 5 1 の受光面に設けられた複数の領域間で検出値の差分を取得する。具体的には、図 2 に示した 4 分割フォトダイオードの領域 A、領域 B、領域 C 及び領域

50

Dにおける検出値について、差分 1 ( $A - C$ ) 及び差分 2 ( $(A + C) - (B + D)$ ) を取得する。

【0029】

図3に、流路Cを通流するラミナーフローL、ラミナーフローL中の微小粒子P及びラミナーフローLに照射される励起光1のレーザスポットSを示す。図中、ラミナーフローLに対する励起光1の照射方向をX軸方向、ラミナーフローLの送液方向をY軸方向とする。また、X軸方向及びY軸方向に垂直な方向をZ軸方向とする。本発明者らは、上記差分 1 ( $A - C$ ) からZ軸方向における微小粒子Pの位置情報を取得でき、上記差分 2 ( $(A + C) - (B + D)$ ) からX軸方向における微小粒子Pの位置情報を取得できることを見出している。

10

【0030】

非点収差素子52により非点収差を与えられたS偏光成分5のS偏光検出器51の受光面における結像パターン(受光位置)は、微小粒子Pが図3のレーザスポットSの中心位置を通流し、励起光1の焦点位置が微小粒子Pの通流位置に一致するとき、図2中点線で示す像となる。一方、微小粒子PがレーザスポットSの中心を外れた周辺位置を通流し、励起光1の焦点位置が微小粒子Pの通流位置に不一致の場合には、結像パターンは、例えば図2中実線で示す像となる。すなわち、微小粒子Pの通流位置に対応してS偏光成分5の結像パターンは変化し、S偏光成分5のうち領域A~Dに投影される割合が微小粒子Pの通流位置に対応して変化する。このため、領域A~DにおけるS偏光成分5の検出値のパターンは、微小粒子Pの通流位置を直接反映する。

20

【0031】

微小粒子Pが通流するフローセルをステップングモータによりZ軸方向に移動させたときの差分 1 ( $A - C$ ) 及び差分 2 ( $(A + C) - (B + D)$ ) の変化を図4に示す。縦軸は、差分 1、2の平均値を示す。横軸は、ステップングモータの移動量をマイクロメートル単位で示す。なお、ステップングモータの移動量は、パルス数(駆動量)から実長(マイクロメートル単位)を算出することが可能である。

【0032】

フローセルの移動開始位置となる原点(ゼロ)は、任意であってよいが、ラミナーフローが正常に形成された条件下で最も好適に粒子の計測が行える位置であることが望ましく、例えば個々の微小粒子Pより検出される散乱光又は蛍光の強度が最も高くなる位置や、散乱光又は蛍光の強度のCV値が最も低くなる位置などとできる。

30

【0033】

図4に示されるように、Z軸方向の移動量に相関して差分 1 ( $A - C$ ) のみが変わる。このことから、差分 1 から微小粒子PのZ軸方向における位置情報が得られることが分かる。さらにZ軸方向への移動量と差分 1 との間には、線形な関係があることも確認できる。図6Aに、差分 1 から微小粒子PのZ軸方向における位置情報をマイクロメートル単位で算出するための算出直線を示す。

【0034】

また、微小粒子Pが通流するフローセルをステップングモータによりX軸方向に移動させたときの差分 1 ( $A - C$ ) 及び差分 2 ( $(A + C) - (B + D)$ ) の変化を図5に示す。X軸方向の移動量に相関して差分 2 のみが変わる。このことから、差分 2 から微小粒子PのX軸方向における位置情報が得られることが分かる。さらにX軸方向への移動量と差分 2 との間には、線形な関係があることも確認できる。図6Bに、差分 2 から微小粒子PのX軸方向における位置情報をマイクロメートル単位で算出するための算出直線を示す。

40

【0035】

既に説明したように、微小粒子Pの通流位置は、ラミナーフローLの乱れによってばらつきを生じる。従って、微小粒子Pの通流位置のばらつきは、ラミナーフローLの送液状態を反映するものである。すなわち、差分 1 ( $A - C$ ) 及び差分 2 ( $(A + C) - (B + D)$ ) から得られる微小粒子Pの位置情報は、ラミナーフローLの送液状態を表す情

50

報として利用できる。

なお、上述の検出値の差分及び微小粒子Pの位置情報等の各種算出処理は、このような算出処理が可能なCPU等を備えた部で行うことが可能である。この算出処理可能なCPU等を備えることが可能な部としては、例えば、上述の測定部及び判定部等が挙げられる。

#### 【0036】

図7～11を参照して具体的に説明する。図は、ラミナーフローLから発生したS偏光成分5の検出値のうち一定の閾値以上であるものから差分1及び差分2を算出し、微小粒子Pの通流位置を算出して一定時間プロットしたグラフである。差分1及び差分2からの通流位置の算出は、図6に示した算出直線を用いて行った。図A及び図Bにおいて、横軸は時間を示し、縦軸はZ軸又はX軸方向における位置情報をマイクロメートル単位で示している。また、図Cの横軸はZ軸方向、縦軸はX軸方向の位置情報をマイクロメートル単位で示している。各図において、プロットの色は、微小粒子の密度（ポピュレーション）を示している。

10

#### 【0037】

図7は、計測開始から終了まで安定した適切なラミナーフローLが形成された例を示している。図Cから、各微小粒子Pがほぼ原点付近に集中して流れていることが分かる。また、図A及び図Bから、各微小粒子Pが計測開始から終了まで安定して原点付近を流れていることが分かる。

20

#### 【0038】

図8及び図9は、ラミナーフローLが乱れている例を示している。図8A及び図8Bから、時間軸に対しては一定の傾向を示しているものの、X軸負方向に微小粒子Pの通流位置がばらついている。また、図8Cでは、微小粒子Pの通流位置がX軸方向に拡散していることが分かる。また、図9A及び図9Bから、時間軸に対しては一定の傾向を示しているものの、Z軸正及び負方向に微小粒子Pの通流位置がばらついている。また、図9Cでは、微小粒子Pの通流位置がZ軸正及び負方向に拡散していることが分かる。このような微小粒子Pの通流位置のずれは、ラミナーフローLが通流する流路の内壁にゴミなどの異物や泡が付着し、安定した送液が阻害された場合に生じる。また、ラミナーフローLの送液圧が、機器の設定間違いや故障（空気漏れ）などによって不適な圧となっているために、通流位置がずれる場合もある。

30

#### 【0039】

図10及び図11は、計測中にラミナーフローLの乱れが生じた例を示している。図10及び図11では、計測終了直前に、微小粒子Pの通流位置がZ軸及びX軸方向の広い範囲に発散している。このような通流位置の発散は、ラミナーフローLが通流する流路に空気が入り込んで泡となった場合に生じ、泡が流路全体に広がって流れ、泡の表面で発生した散乱光が検出されることに起因する。流路への泡の混入は、ラミナーフローLを形成する液体（シース液、あるいは微小粒子Pを含むサンプル液）の流路への供給が断絶することなどにより生じる場合がある。

#### 【0040】

##### (2) 判定ステップ

図7～11で説明したように、差分1(A-C)及び差分2((A+C)-(B+D))に基づけばラミナーフローLの送液状態を判定することが可能である。図8及び図9に示されるようなラミナーフローLの乱れが生じている間は、微小粒子Pの光学特性の測定が適切に行われていないと考えられる。このため、この間に取得されたデータは、解析に用いられないようにすることが好ましい。また、図10及び図11で説明したような流路への泡の混入が生じた後に取得されたデータも、通常のデータではないので解析に用いられないようにすることが望ましい。

40

#### 【0041】

判定部は、ラミナーフローLからのS偏光成分5の検出値から算出された差分1及び差分2が、所定範囲を超えて拡散あるいは発散している場合（図8～図11参照）には

50

、ラミナーフローLが送液異常であると判定する。例えば、判定部は、前検出イベント数に対する、差分 1 及び差分 2 が所定範囲を超えた検出イベント数の比率が、所定値に達すると異常判定を行う。なお、差分 1 及び差分 2 が所定値を超えない場合には、ラミナーフローLの送液状態は正常と判定される。

#### 【0042】

図12～16を参照し、検出イベント数の比率に基づく異常判定のための処理を具体的に説明する。図12～16は、それぞれ図7～11に示した微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフから、通流位置が一定範囲を外れた微小粒子Pの比率を算出し、時間を横軸としてグラフ化している。図は、原点±20マイクロメートルの範囲を外れた粒子を1、範囲内を流れた粒子を0として縦軸にプロットし、横軸は計測された時間として、その結果に対してカーネル平滑化法を用いて平滑化したものである。図AはZ軸方向、図BはX軸方向の結果を示す。なお、平均化は、必須の処理とはならず、カーネル平滑化法以外にも移動平均、指数移動平均、スプライン平滑化など各種の方法を用いてもよい。なお、プロットに対してカーネル平滑化法や移動平均法などを適用する場合、プロットの横軸は時間に限定されず、検出された粒子のカウント数などとしても良い。

10

#### 【0043】

計測開始から終了まで安定した適切なラミナーフローLが形成されている図12の例では、原点±20マイクロメートルの範囲を外れた微小粒子Pの比率は、Z軸及びX軸方向ともに低く抑えられている。一方、ラミナーフローLが乱れている図13及び図14の例では、同比率が大きな値となっている。また、流路への泡の混入を生じている図15及び図16の例でも、計測終了直前に、同比率の急激な上昇が確認できる。従って、同比率はラミナーフローの送液状態の安定性の指標となり得るといえる。例えば同比率として0.5の上限値を設定すれば、この値を超えた場合にラミナーフローLが送液異常であると判定することが可能となる。

20

#### 【0044】

なお、図10及び図11に示した微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフにおいて、原点から過度に離れた（例えば100マイクロメートル）プロットでは、図6に示したような差分 1 又は差分 2 と微小粒子Pの位置情報との線形性が保たれていない可能性がある。しかし、この場合にも、上記の例（原点±20マイクロメートル）のように一定の範囲条件を設定することで、送液異常の判定を有効に行うことができる。なお、ここでは原点±20マイクロメートルの範囲条件を例示したが、この範囲条件は計測時の送液条件や流路の形状などに応じて適宜設定され得る。

30

#### 【0045】

微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフ（図7～11参照）及び一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフ（図12～16参照）は、視覚的かつ直観的にラミナーフローLの状態を判定するために有用である。従って、本技術に係る微小粒子測定装置では、これらの差分 1 及び差分 2 から導き出される情報を出力部に表示するようにしてもよい。具体的には、微小粒子Pの通流位置を一定時間プロットしたグラフ（図7～11参照）及び一定範囲を外れた微小粒子Pの比率の時間変化を表すグラフ（図12～16参照）を出力部に画像表示することで、ラミナーフローLの送液状態を視覚的にリアルタイムでユーザに提示することも可能である。なお、各グラフに用いる軸には、差分 1 及び差分 2 から算出される位置情報（マイクロメートル）に替えて、差分 1 及び差分 2 の値をそのまま用いてもよい。この場合、微小粒子Pの最適な通流位置における差分 1 及び差分 2 の値を事前に取得しておき、そこを原点（ゼロ）することが望ましい。

40

#### 【0046】

##### (3) 異常検出時の動作

判定部は、装置動作中にラミナーフローLの送液状態の判定を常時行うようにすることが好ましい。送液状態が異常と判定された場合、判定部は以下の処理を実行する。

#### 【0047】

50

## [アラート]

ユーザは、出力部に表示される差分 1 及び差分 2 に関する情報により計測中リアルタイムにラミナーフロー L の送液状態を確認し、異常に対処することができる。加えて、判定部が、出力部からユーザに対して警告（アラート）を提示するようにしてもよい。提示の様子は、ディスプレイ上への画像による提示、プリンタによる文字や図形による提示、スピーカによる音での提示などあってよい。アラートの提示により、これを確認したユーザが計測を直ちに中断することができ、サンプルや時間の無駄をなくすることができる。

## 【0048】

ユーザは、アラートによりラミナーフロー L の乱れを確認した場合には、計測を中断することが望ましい。そして、流路の内壁へのゴミなどの異物や泡の付着を取り除くための洗浄や、ラミナーフロー L の送液圧の調整などの復帰作業を行うことが好ましい。復帰作業後、安定した送液が確認された後に計測を再開することでサンプルや時間の無駄をなくすることができる。また、流路への泡の混入が確認された場合には、計測を中断し、一層の泡の流入を防止することが好ましい。大量の泡が流路内に入ってしまうと、泡の除去に手間がかかり、泡の除去が不完全なまま計測を再開してしまうおそれがある。

10

## 【0049】

## [自動停止]

送液状態が異常と判定された場合、上記のアラートに替えて、あるいはアラートともに、装置を自動停止するようにしてもよい。これにより、サンプルや時間の無駄をなくし、流路への一層の泡の流入を防止できる。

20

## 【0050】

## [データ除外]

さらに、判定部は、微小粒子 P から発生する蛍光 3 及び P 偏光成分 4 の強度情報に基づいて微小粒子 P の光学特性の分析結果を得る際に、ラミナーフロー L の送液状態が異常であった間に取得された強度情報を除外する処理を行うようにしてもよい。正常時に取得された強度情報のみを抽出して用い、微小粒子 P の光学特性を解析することで、送液異常時に取得された不適切なデータを排除して、正確な分析結果を得ることができデータの信頼性を高めることができる。

## 【0051】

以上のように、本技術に係る微小粒子測定装置は、ラミナーフローから発生する散乱光の検出器受光面における受光位置情報からラミナーフローの送液状態を判定し、送液の異常を自動的に検知する。本技術に係る微小粒子測定装置によれば、計測後に微小粒子の光学特性を解析する際に、当該計測が行われた際のラミナーフローの送液状態を確認することで、送液異常による不適切なデータが解析結果に含まれていないかどうかを知ることができ、解析結果の確からしさ（信頼性）の評価が可能である。

30

## 【0052】

また、本技術に係る微小粒子測定装置は、ラミナーフローの送液異常が検知された場合に、アラートを発したり自動停止したりするため、送液が異常なまま計測が続けられることによるサンプルや時間の無駄をなくすることができる。さらに、本技術に係る微小粒子測定装置では、送液異常時に取得された不適切なデータを排除して微小粒子の光学特性の解析結果を得ることができるので、精度の高い分析が可能である。

40

## 【0053】

## 3. 変形例

## (1) 光検出部

上述の実施形態に係る微小粒子測定装置では、分光素子 31 と、受光素子アレイ又は 2 次元受光素子とした蛍光検出器 32 とを組み合わせて光検出部を構成し、微小粒子 P から発生する蛍光 3 をスペクトルとして取得する例を説明した。本技術に係る微小粒子測定装置において、光検出部は、図 17 に示すように、複数の波長選択素子（ここでは符号 31a、31b、31c の 3 つ）を用いて、蛍光 3 から所望の波長域のみを選択して蛍光検出器（ここでは符号 32a、32b、32c の 3 つ）によって検出する構成であってもよい

50

。波長選択素子 3 1 a、3 1 b、3 1 c には、特定の波長域の光のみを反射し、それ以外の光を透過するダイクロミックミラー等を使用すればよい。また、蛍光検出器 3 2 a、3 2 b、3 2 c には、P D (Photo diode)、C C D (Charge Coupled Device) 又は P M T (Photo-Multiplier Tube) などを使用することができる。なお、波長選択素子及び蛍光検出器の組み合わせはここで示した 3 つに限られず、1 又は 2 以上とできる。

【0054】

(2) S 偏光検出器

上述の実施形態に係る微小粒子測定装置では、S 偏光検出器 5 1 として 4 分割フォトダイオードを用い、非点収差を生じた S 偏光成分 5 の偏光検出器 5 1 の受光面における結像パターン (受光位置) を微小粒子 P の位置情報として取得する例を説明した。本技術に係る微小粒子測定装置では、高速カメラを用いて、流路 C を通流する微小粒子 P を直接撮影し、画像処理によって微小粒子 P の位置情報を取得することも考えられる。

10

【0055】

4. ラミナーフローモニタリング方法及びラミナーフローモニタリングプログラム

本技術に係るラミナーフローモニタリング方法は、上述の微小粒子測定装置の判定部によって実行される処理に対応するものである。また、微小粒子測定装置の判定部には、この方法を実行するためのラミナーフローモニタリングプログラムが格納されている。

【0056】

プログラムは、ハードディスクに格納・保持され、CPU および OS の制御の下でメモリに読み込まれて、上述の補正処理を実行する。プログラムは、コンピュータ読み取り可能な記録媒体に記録されたものとできる。記録媒体としては、コンピュータ読み取り可能な記録媒体であれば特に制限はないが、具体的には、例えば、フレキシブルディスクや CD-ROM 等の円盤形記録媒体が用いられる。また、磁気テープ等のテープ型記録媒体を用いてもよい。

20

【0057】

本技術に係る微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法は以下のような構成をとることもできる。

(1) ラミナーフローに光を照射する照射手順と、前記ラミナーフローから発生する散乱光から分離され、非点収差を与えられた S 偏光成分を検出器により受光し、該検出器における前記 S 偏光成分の受光位置情報を取得する位置検出手順と、前記受光位置情報に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する判定手順と、を含む微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法。

30

(2) 前記位置検出手順において、前記検出器として、受光面が複数領域に分割された検出器を用いる上記 (1) 記載のラミナーフローモニタリング方法。

(3) 前記位置検出手順において、前記検出器として、受光面が領域 A、領域 B、領域 C、領域 D の 4 つの領域に格子状に分割された検出器を用い、前記受光位置情報として、前記領域 A と、前記領域 A に隣接しない前記領域 C と、の検出値の差分 1 ( $A - C$ ) を取得する上記 (2) 記載のラミナーフローモニタリング方法。

(4) 前記受光位置情報として、前記領域 A と前記領域 C の検出値の和 ( $A + C$ ) と、前記領域 B と前記領域 D の検出値の和 ( $B + D$ ) と、の差分 2 ( $(A + C) - (B + D)$ ) を取得する上記 (3) 記載のラミナーフローモニタリング方法。

40

(5) 前記判定手順において、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する上記 (4) 記載のラミナーフローモニタリング方法。

(6) 前記判定手順において、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する上記 (4) 又は (5) 記載のラミナーフローモニタリング方法。

(7) 前記判定手順において、前記所定範囲外れた前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 の取得頻度が所定頻度を越えた場合に、前記ラミナーフローを異常と判定する上記 (4) ~ (6) のいずれかに記載のラミナーフローモニタリング方法。

50

(8) 前記位置検出手順において、前記検出器として、4分割フォトダイオードを用いる上記(2)～(7)のいずれかに記載のラミナーフローモニタリング方法。

【0058】

また、本技術に係る微小粒子測定装置は以下のような構成をとることもできる。

(10) ラミナーフローに光を照射する光照射部と、前記ラミナーフローから発生する散乱光をS偏光成分とP偏光成分とに分離する第一分光素子と、前記S偏光成分を受光するS偏光検出器と、前記第一分光素子と前記S偏光検出器との間に配設され、前記S偏光成分に非点収差を与える非点収差素子と、前記S偏光検出器からの出力を受けて前記S偏光成分の受光位置情報を取得し、該受光位置情報に基づいて前記ラミナーフローの状態を判定する判定部と、を備える微小粒子測定装置。

10

(11) 前記S偏光検出器は、受光面が領域A、領域B、領域C、領域Dの4つの領域に格子状に分割され、前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域Aと、前記領域Aに隣接しない前記領域Cと、の検出値の差分  $1(A - C)$  を取得する上記(10)記載の微小粒子測定装置。

(12) 前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域Aと前記領域Cの検出値の和  $(A + C)$  と、前記領域Bと前記領域Dの検出値の和  $(B + D)$  と、の差分  $2((A + C) - (B + D))$  を取得する上記(11)記載の微小粒子測定装置。

(13) 前記判定部は、前記差分1及び/又は前記差分2に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する上記(12)記載の微小粒子測定装置。

(14) 前記判定部は、前記差分1及び/又は前記差分2が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分1及び/又は前記差分2が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する上記(12)又は(13)記載の微小粒子測定装置。

20

(15) 出力部を備え、前記差分1及び/又は前記差分2に関する情報を前記出力部に画像表示する上記(12)～(14)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(16) 前記判定部による前記ラミナーフローの異常判定を前記出力部により提示する上記(14)又は(15)記載の微小粒子測定装置。

(17) 前記判定部により前記ラミナーフローの異常が判定された場合、自動停止する上記(14)～(16)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(18) 前記非点収差素子がシリンドリカルレンズである上記(10)～(17)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

30

(19) 前記ラミナーフローから発生する光を前記散乱光と蛍光に分離する第二分光素子と、前記P偏光成分を検出するP偏光検出器と、前記蛍光を検出する蛍光検出器と、を備える上記(10)～(18)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

(20) 前記蛍光を分光する第三分光素子を備え、前記蛍光検出器には、前記第三分光素子により分光された前記蛍光を検出する、複数の独立した受光素子が配列されている上記(10)～(19)のいずれかに記載の微小粒子測定装置。

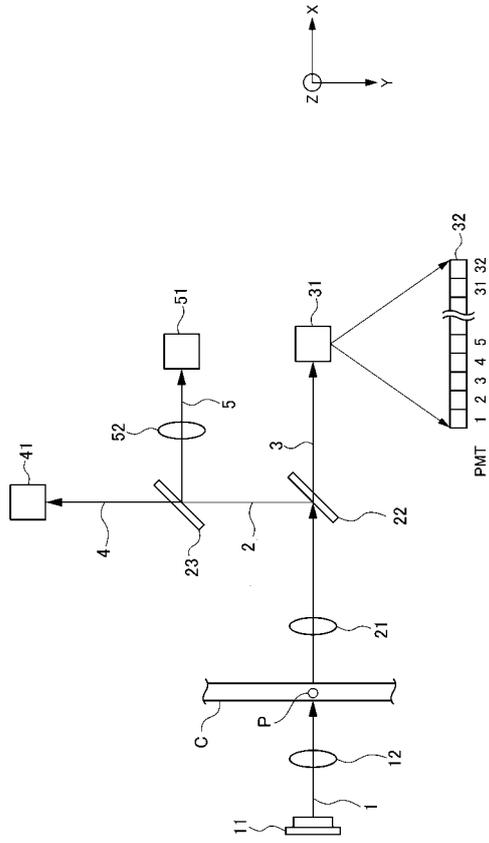
【符号の説明】

【0059】

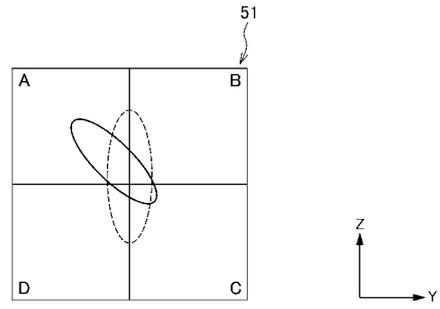
1：励起光、11：光源、12：対物レンズ、2：散乱光、21：集光レンズ、22：分光素子、23：分光素子、3：蛍光、31：分光素子、31a、31b、31c：波長選択素子、32、32a、32b、32c：蛍光検出器、4：P偏光成分、41：P偏光検出器、5：S偏光成分、51：S偏光検出器、52：非点収差素子、C：流路、L：ラミナーフロー、P：微小粒子、S：レーザスポット

40

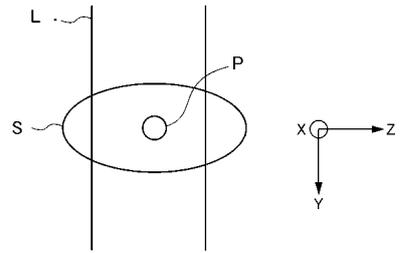
【 図 1 】



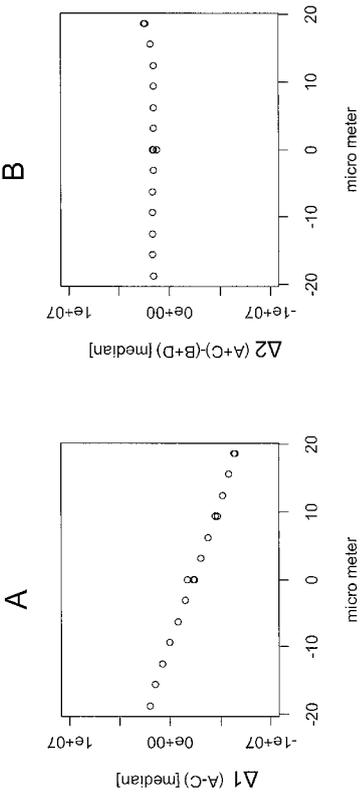
【 図 2 】



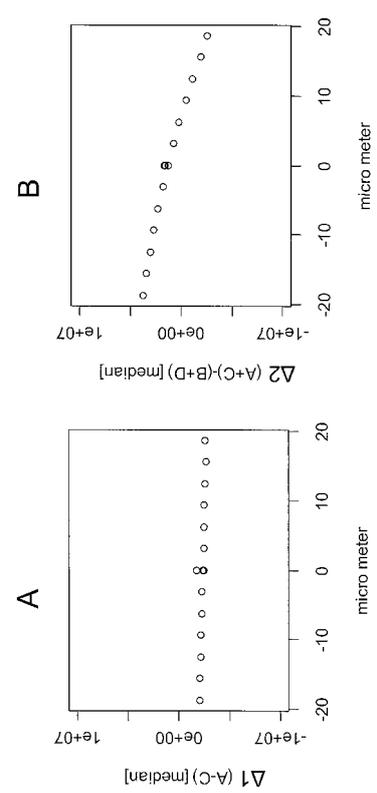
【 図 3 】



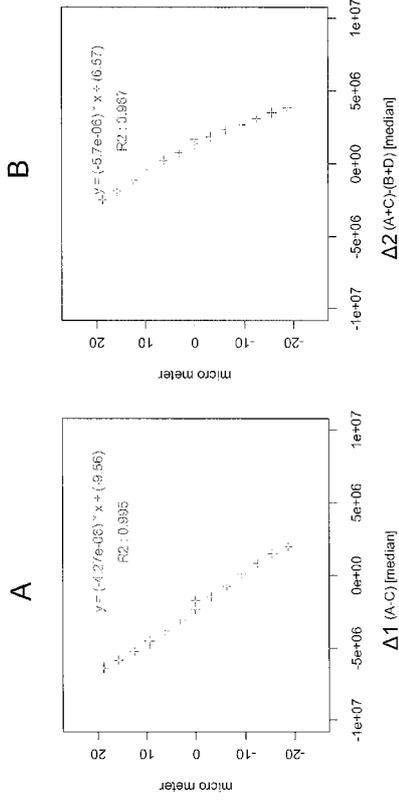
【 図 4 】



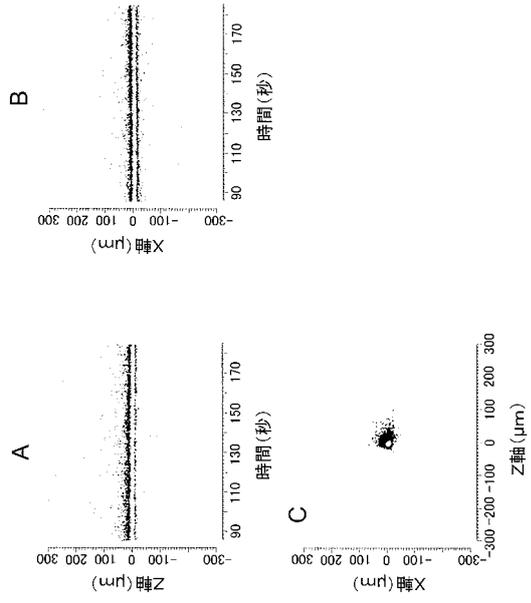
【 図 5 】



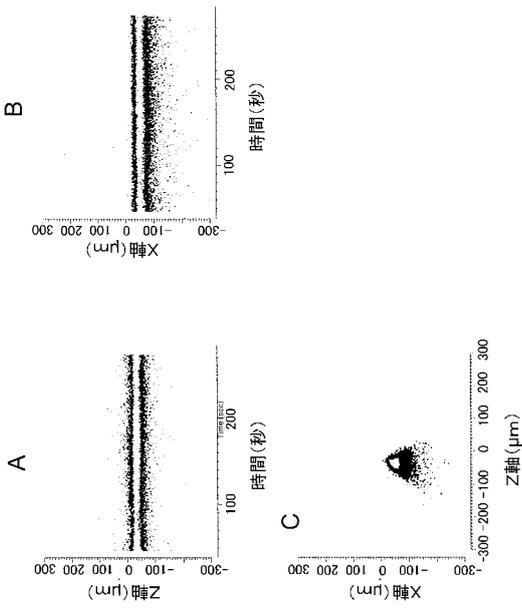
【 図 6 】



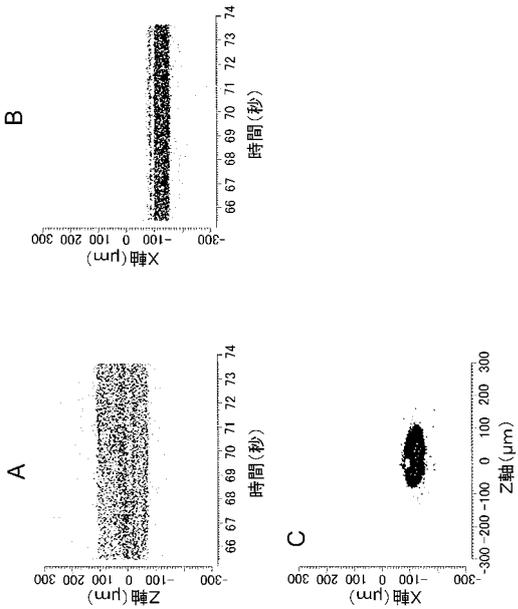
【 図 7 】



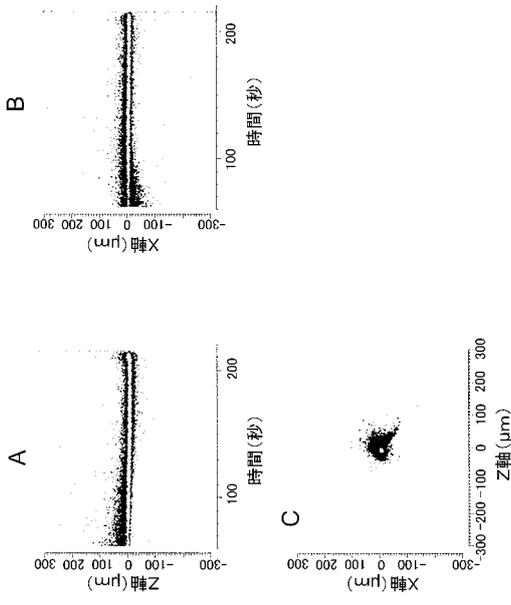
【 図 8 】



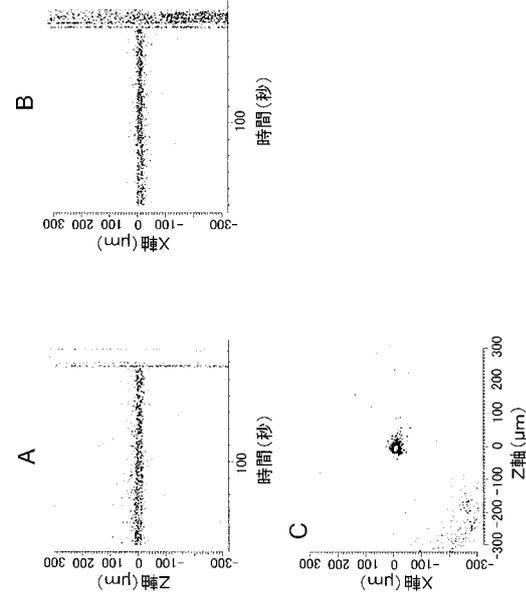
【 図 9 】



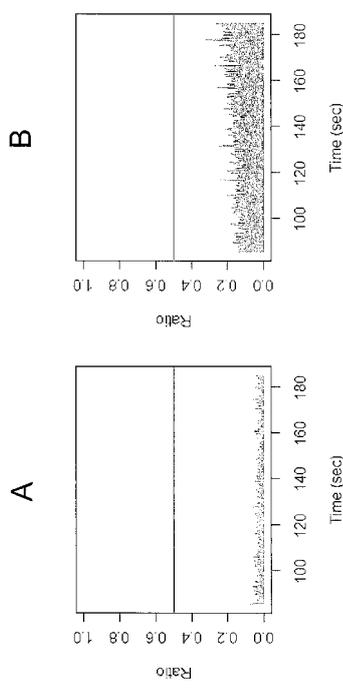
【図 1 0】



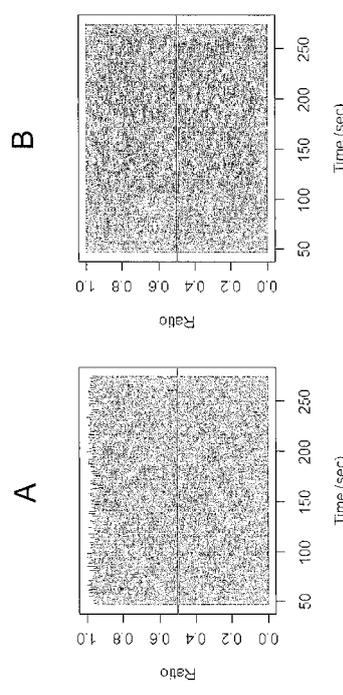
【図 1 1】



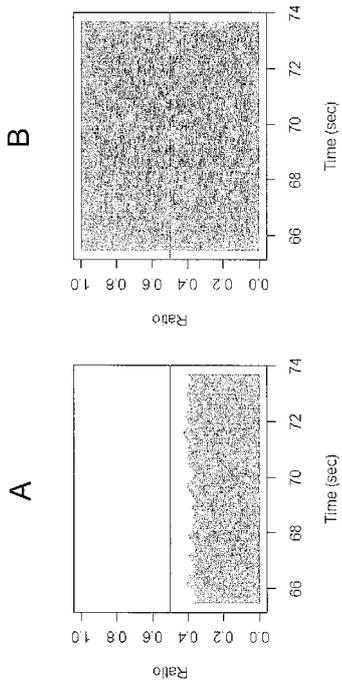
【図 1 2】



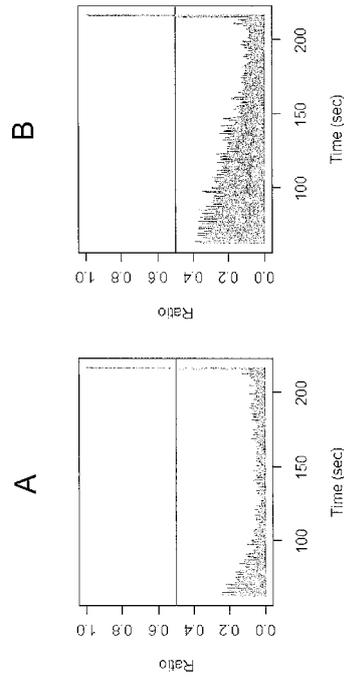
【図 1 3】



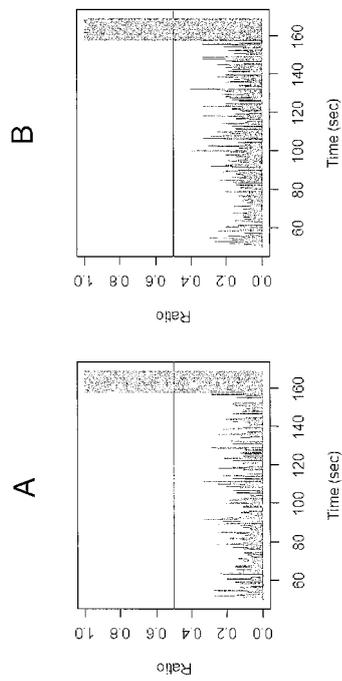
【 図 1 4 】



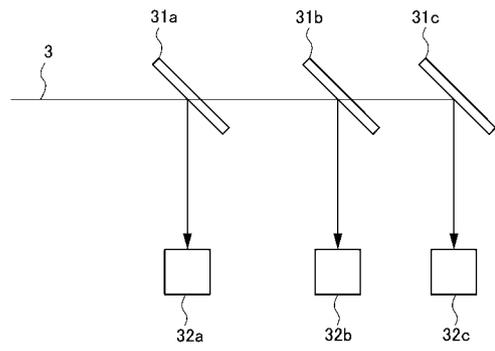
【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【 図 1 7 】



## 【手続補正書】

【提出日】平成28年5月10日(2016.5.10)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ラミナーフローに光を照射する照射手順と、  
前記ラミナーフローから発生する散乱光から分離され、非点収差を与えられたS偏光成分を検出器により受光し、該検出器における前記S偏光成分の受光位置情報を取得する位置検出手順と、  
前記受光位置情報に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する判定手順と、  
を含む微小粒子測定装置におけるラミナーフローモニタリング方法。

【請求項2】

前記位置検出手順において、前記検出器として、受光面が複数領域に分割された検出器を用いる請求項1記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項3】

前記位置検出手順において、前記検出器として、受光面が領域A、領域B、領域C、領域Dの4つの領域に格子状に分割された検出器を用い、  
前記受光位置情報として、前記領域Aと、前記領域Aに隣接しない前記領域Cと、の検出値の差分  $1 (A - C)$  を取得する請求項2記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項4】

前記受光位置情報として、前記領域Aと前記領域Cの検出値の和  $(A + C)$  と、前記領域Bと前記領域Dの検出値の和  $(B + D)$  と、の差分  $2 ((A + C) - (B + D))$  を取得する請求項3記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項5】

前記判定手順において、前記差分  $1$  及び / 又は前記差分  $2$  に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する請求項4記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項6】

前記判定手順において、前記差分  $1$  及び / 又は前記差分  $2$  が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分  $1$  及び / 又は前記差分  $2$  が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する請求項4又は5記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項7】

前記判定手順において、前記所定範囲を外れた前記差分  $1$  及び / 又は前記差分  $2$  の取得頻度が所定頻度を超えた場合に、前記ラミナーフローを異常と判定する請求項4～6記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項8】

前記位置検出手順において、前記検出器として、4分割フォトダイオードを用いる請求項2～7記載のラミナーフローモニタリング方法。

【請求項9】

微小粒子を含む前記ラミナーフローから発生する光を検出する光検出手順と、  
該光検出手順において取得された前記光の強度情報に基づき、前記微小粒子の光学特性の分析結果を得る解析手順と、を含み、  
請求項6～8のいずれか一項に記載のラミナーフローモニタリング方法を実施する手順と、  
を含み、  
前記解析手順において、前記ラミナーフローが正常と判定された間に取得された前記強度情報のみを抽出して前記分析結果を得る微小粒子分析方法。

## 【請求項 10】

ラミナーフローに光を照射する光照射部と、  
前記ラミナーフローから発生する散乱光を S 偏光成分と P 偏光成分とに分離する第一分光素子と、  
前記 S 偏光成分を受光する S 偏光検出器と、  
前記第一分光素子と前記 S 偏光検出器との間に配設され、前記 S 偏光成分に非点収差を与える非点収差素子と、  
前記 S 偏光検出器からの出力を受けて前記 S 偏光成分の受光位置情報を取得し、該受光位置情報に基づいて前記ラミナーフローの状態を判定する判定部と、  
を備える微小粒子測定装置。

## 【請求項 11】

前記 S 偏光検出器は、受光面が領域 A、領域 B、領域 C、領域 D の 4 つの領域に格子状に分割され、  
前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域 A と、前記領域 A に隣接しない前記領域 C と、の検出値の差分 1 ( A - C ) を取得する請求項 10 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 12】

前記判定部は、前記受光位置情報として、前記領域 A と前記領域 C の検出値の和 ( A + C ) と、前記領域 B と前記領域 D の検出値の和 ( B + D ) と、の差分 2 ( ( A + C ) - ( B + D ) ) を取得する請求項 11 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 13】

前記判定部は、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に基づいて、前記ラミナーフローの状態を判定する請求項 12 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 14】

前記判定部は、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が所定範囲を外れた場合に前記ラミナーフローを異常と判定し、前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 が前記所定範囲内に含まれる場合に前記ラミナーフローを正常と判定する請求項 12 又は 13 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 15】

出力部を備え、  
前記差分 1 及び / 又は前記差分 2 に関する情報を前記出力部に画像表示する請求項 12 ~ 14 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 16】

前記判定部による前記ラミナーフローの異常判定を前記出力部により提示する請求項 14 又は 15 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 17】

前記判定部により前記ラミナーフローの異常が判定された場合、自動停止する請求項 14 ~ 16 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 18】

前記非点収差素子がシリンドリカルレンズである請求項 10 ~ 17 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 19】

前記ラミナーフローから発生する光を前記散乱光と蛍光に分離する第二分光素子と、  
前記 P 偏光成分を検出する P 偏光検出器と、  
前記蛍光を検出する蛍光検出器と、  
を備える請求項 10 ~ 18 記載の微小粒子測定装置。

## 【請求項 20】

前記蛍光を分光する第三分光素子を備え、  
前記蛍光検出器には、前記第三分光素子により分光された前記蛍光を検出する、複数の独立した受光素子が配列されている請求項 10 ~ 19 記載の微小粒子測定装置。

## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. PCT/JP2013/065586
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> G01N15/14(2006.01)i, G01B11/00(2006.01)i, G01N21/21(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) G01N15/14, G01B11/00, G01N21/21, G01N21/64  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)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 08-304263 A (Hitachi, Ltd.), 22 November 1996 (22.11.1996), paragraphs [0015], [0018], [0033], [0034]; fig. 1, 2 (Family: none)	1-20
Y	JP 2011-149822 A (Sony Corp.), 04 August 2011 (04.08.2011), entire text; all drawings (Family: none)	1-20
A	JP 02-304333 A (Hitachi, Ltd.), 18 December 1990 (18.12.1990), entire text; all drawings (Family: none)	1-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 09 July, 2013 (09.07.13)		Date of mailing of the international search report 23 July, 2013 (23.07.13)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2013/065586

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 62-036541 A (Canon Inc.), 17 February 1987 (17.02.1987), entire text; all drawings (Family: none)	1-20

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 5 5 8 6	
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, G01B11/00(2006.01)i, G01N21/21(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i			
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. G01N15/14, G01B11/00, G01N21/21, G01N21/64			
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	
Y	JP 08-304263 A (株式会社日立製作所) 1996.11.22, 【0015】、【0018】、【0033】、【0034】、【図1】、【図2】 (ファミリーなし)	1-20	
Y	JP 2011-149822 A (ソニー株式会社) 2011.08.04, 【全文】、【全図】 (ファミリーなし)	1-20	
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー		の日の後に公表された文献	
「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		「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	
「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		「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	
「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)		「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	
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献	
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願			
国際調査を完了した日 09.07.2013		国際調査報告の発送日 23.07.2013	
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) 土岐 和雅	2 J   4 4 5 9
		電話番号 03-3581-1101	内線 3252

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 3 / 0 6 5 5 8 6
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 02-304333 A (株式会社日立製作所) 1990.12.18, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-20
A	JP 62-036541 A (キヤノン株式会社) 1987.02.17, 全文、全図 (ファミリーなし)	1-20

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(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, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), 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, 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

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。