

(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2013-160672

(P2013-160672A)

(43) 公開日 平成25年8月19日(2013.8.19)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
GO 1 N 21/64 (2006.01)	GO 1 N 21/64 Z	2 G 0 4 3
GO 1 N 15/14 (2006.01)	GO 1 N 15/14 D	

審査請求 未請求 請求項の数 11 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2012-23854 (P2012-23854)  
 (22) 出願日 平成24年2月7日(2012.2.7)

(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 岡本 好喜  
 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 BA16 BA17 CA04 CA06 EA01  
 FA06 GA04 GB01 HA01 HA03  
 HA05 HA09 JA02 KA09 LA01  
 LA02 LA03

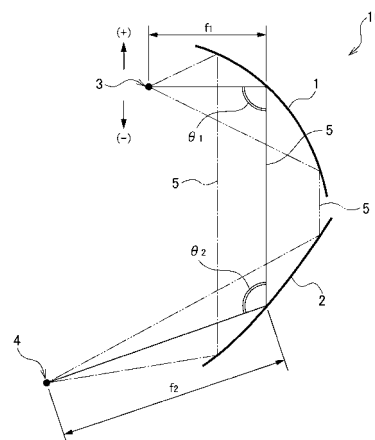
(54) 【発明の名称】 蛍光検出用光学系及び微小粒子分析装置

(57) 【要約】

【課題】複数の光源を使用した測定においても、高感度で蛍光を検出することが可能な蛍光検出用光学系及び微小粒子分析装置を提供する。

【解決手段】蛍光検出用光学系に、2枚の放物面鏡（第1の放物面鏡、第2の放物面鏡）を設けて、異なる方向から入射した蛍光が、第1の放物面鏡により平行光として第2の放物面鏡に向けて反射され、第2の放物面鏡によって一点（像点）に集光される構成にする。そして、この蛍光検出用光学系を、微小粒子分析装置に適用する。

【選択図】 図1



1, 2: 放物面鏡 3: 物点 4: 像点 5: 蛍光 10: 光学系  
 f1, f2: 疑似焦点距離  $\theta_1, \theta_2$ : 光軸折り曲げ角度

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

2枚の放物面鏡を備え、

異なる方向から入射した蛍光が、第1の放物面鏡により平行光として第2の放物面鏡に向けて反射され、第2の放物面鏡によって一点に集光される構成の蛍光検出用光学系。

## 【請求項 2】

前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡は、反射面の曲率が相互に異なる請求項1に記載の蛍光検出用光学系。

## 【請求項 3】

前記第2の放物面鏡の疑似焦点距離  $f_2$  と、前記第1の放物面鏡の疑似焦点距離  $f_1$  との比 ( $f_2 / f_1$ ) を  $\beta$  とし、前記第2の放物面鏡による光軸折り曲げ角度  $\theta_2$  と、前記第1の放物面鏡による光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  との差 ( $\theta_2 - \theta_1$ ) を  $\Delta\theta$  としたとき、これらの関係が下記数式を満たす請求項1に記載の蛍光検出用光学系。

10

$$\Delta\theta = a \ln \beta + b$$

$$\text{ただし、} 49 \leq a \leq 60, \quad -2 \leq b \leq 8$$

## 【請求項 4】

第1の放物面鏡の開口数 NA が 0.5 以上である請求項1に記載の蛍光検出用光学系。

20

## 【請求項 5】

更に、前記第1の放物面鏡で反射された蛍光を前記第2の放物面鏡に向けて反射する平面鏡を備える請求項1に記載の微小粒子分析装置。

## 【請求項 6】

前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡とが間隔をあけて配置されている請求項1に記載の蛍光検出用光学系。

## 【請求項 7】

請求項1に記載の蛍光検出用光学系を備える微小粒子分析装置。

## 【請求項 8】

2以上の光源と複数の光検出器とを備え、前記光源から励起光を出射し、該励起光が照射された微小粒子から発せられる光を前記光検出器で検出する検出部を有し、

30

該検出部に前記第1及び第2の放物面鏡が配置されている請求項7に記載の微小粒子分析装置。

## 【請求項 9】

前記検出部には、前記第1の放物面鏡で反射された蛍光を前記第2の放物面鏡に向けて反射する平面鏡が設けられており、

前記蛍光は、前記第2の放物面鏡によって前記第1の放物面鏡の後方側に反射される請求項8に記載の微小粒子分析装置。

## 【請求項 10】

前記第1及び第2の放物面鏡は、測定対象の微小粒子と、励起光を透過し蛍光を反射するハーフミラーとの間に配置され、

40

前記微小粒子から発せられた複数の蛍光を、前記ハーフミラーに向けて集光する請求項8に記載の微小粒子分析装置。

## 【請求項 11】

前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡とが間隔をあけて配置されており、

前記励起光は、第1の放物面鏡と第2の放物面鏡との間を通過して、前記微小粒子に照射される請求項8に記載の微小粒子分析装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

50

本技術は、蛍光検出用光学系及び微小粒子分析装置に関する。より詳しくは、複数の蛍光を検出するための光学系及びこの光学系を備えた微小粒子分析装置に関する。

【背景技術】

【0002】

一般に、細胞、微生物及びリボソームなどの生体関連微小粒子を識別する場合は、フローサイトメトリー（フローサイトメータ）を用いた光学的測定方法が利用されている。フローサイトメトリーは、流路内を1列になって通流する微小粒子に特定波長のレーザー光を照射し、各微小粒子から発せられた蛍光や散乱光を検出することで、複数の微小粒子を1個ずつ識別する分析手法である。

【0003】

具体的には、流路内において、測定対象の微小粒子を含むサンプル液と、その周囲を流れるシース（鞘）液とで層流を形成し、サンプル液中に含まれる複数の微小粒子を1列に並べる。その状態で流路に向けてレーザー光を照射すると、微小粒子がレーザービームを横切るように1個ずつ通過する。

【0004】

このとき、レーザー光により励起されて各微小粒子から発せられた蛍光や散乱光を、CCD（Charge Coupled Device；電荷結合素子）又はPMT（Photo-Multiplier Tube；光電子増倍管）などの光検出器を用いて検出する。そして、光検出器で検出した光を電気的信号に変換して数値化し、統計解析を行うことにより、個々の微小粒子の種類、大きさ及び構造などを判定する。

【0005】

一方、細胞などの生体関連微小粒子から発せられる蛍光は微弱であるため、これらを分析対象とするフローサイトメータには、高い蛍光検出性能が要求される。特に、試料に、波長の異なる複数の励起光を照射し、それにより生じる複数の蛍光を検出するマルチビーム測定においては、蛍光検出の高感度化が求められている。

【0006】

光検出分野において、検出性能を向上させる方法としては、例えば、光増幅器によって試料から発せられた蛍光を増幅した後、検出する方法（特許文献1参照）や、検出した信号を電気的に補正する方法（特許文献2参照）などがある。また、従来、反射鏡として放物面鏡や楕円鏡を使用した光検出用光学系も提案されている（特許文献3～5参照）。

【0007】

特許文献3、4に記載されている従来光学系では、放物面鏡の焦点近傍に試料を配置し、試料から発せられた光を放物面鏡により平行光にして、検出器に向けて出射されるようにしている。また、特許文献5に記載の蛍光測定装置では、試料から種々の方向に発せられた蛍光を、放物面鏡や楕円鏡によって検出器の入射面に集光している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】特開2010-099095号公報

【特許文献2】特開2011-232259号公報

【特許文献3】特表2001-509266号公報

【特許文献4】特開2003-329590号公報

【特許文献5】特開2002-162350号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

しかしながら、光増幅器を設けたり、検出信号を補正したりすることで、蛍光の検出感度を高める方法は、同時にノイズ成分も増幅してしまうことがあるため、検出感度向上には限界がある。また、特許文献3、4に記載されている技術は、放物面鏡の軸外特性が劣るため、複数の光源を使用するマルチビーム測定には適用することができない。更に、特

10

20

30

40

50

許文献 5 に記載されている技術は、蛍光取得に有利な後方光（励起光側に発せられる光）には適さないという問題点がある。

【 0 0 1 0 】

そこで、本開示は、複数の光源を使用した測定においても、高感度で蛍光を検出することが可能な蛍光検出用光学系及び微小粒子分析装置を提供することを主目的とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 1 】

本開示の蛍光検出用光学系は、2枚の放物面鏡を備え、異なる方向から入射した蛍光が、第1の放物面鏡により平行光として第2の放物面鏡に向けて反射され、第2の放物面鏡によって一点に集光される構成となっている。

この蛍光検出用光学系では、前記第1の放物面鏡及び前記第2の放物面鏡として、反射面の曲率が相互に異なるものを使用することができる。

また、前記第2の放物面鏡の疑似焦点距離  $f_2$  と、前記第1の放物面鏡の疑似焦点距離  $f_1$  との比 ( $f_2 / f_1$ ) を  $a$  とし、前記第2の放物面鏡による光軸折り曲げ角度  $\theta_2$  と、前記第1の放物面鏡による光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  との差 ( $\theta_2 - \theta_1$ ) を  $b$  としたとき、これらの関係が下記数式 1 を満たすようにしてもよい。

【 0 0 1 2 】

【数 1】

$$\Delta\theta = a \ln\beta + b$$

ただし、 $49 \leq a \leq 60$ ,  $-2 \leq b \leq 8$

【 0 0 1 3 】

一方、第1の放物面鏡は開口数 NA を 0.5 以上とすることができる。

この蛍光検出用光学系は、更に、前記第1の放物面鏡で反射された蛍光を前記第2の放物面鏡に向けて反射する平面鏡を備えていてもよい。

また、前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡とを間隔をあけて配置することもできる。

【 0 0 1 4 】

本開示の微小粒子分析装置は、前述した蛍光検出用光学系を備えるものである。

この微小粒子分析装置は、2以上の光源と複数の光検出器とを備えていてもよく、その場合、前記光源から励起光を出射し、該励起光が照射された微小粒子から発せられる光を前記光検出器で検出する検出部を設け、該検出部に前記第1及び第2の放物面鏡を配置することができる。

また、前記第1及び第2の放物面鏡を、測定対象の微小粒子と、励起光を透過し蛍光を反射するハーフミラーとの間に配置し、前記微小粒子から発せられた複数の蛍光を、前記ハーフミラーに向けて集光してもよい。

更に、前記検出部に、前記第1の放物面鏡で反射された蛍光を前記第2の放物面鏡に向けて反射する平面鏡を設け、前記蛍光が、前記第2の放物面鏡によって前記第1の放物面鏡の後方側に反射される構成としてもよい。

更にまた、前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡とを間隔をあけて配置し、前記励起光を、第1の放物面鏡と第2の放物面鏡との間を通過させて、前記微小粒子に照射することもできる。

【発明の効果】

【 0 0 1 5 】

本開示によれば、2枚の放物面鏡によって、異なる方向から入射した蛍光が一点に集光される構成としているため、複数の光源を使用した測定においても、高感度で蛍光を検出することができる。

【図面の簡単な説明】

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 6 】

【図 1】本開示の第 1 の実施形態の蛍光検出用光学系の構成例を示す概念図である。

【図 2】放物面鏡 1 での光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  が  $70^\circ$  のときの光軸折り曲げ角度差と、軸外特性（軸外収差）との関係を示すグラフ図である。

【図 3】光軸折り曲げ角度差と光学倍率との関係を示すグラフ図である。

【図 4】(a) は図 1 に示す光学系 10 の光路とスポットサイズを示す概念図であり、(b) は放物面鏡 2 の向きを変えた場合の光路とスポットサイズを示す概念図である。

【図 5】本開示の第 1 の実施形態の変形例の蛍光検出用光学系の構成例を示す概念図である。

【図 6】本開示の第 2 の実施形態の微小粒子分析装置の構成を示す概念図である。

10

## 【発明を実施するための形態】

## 【 0 0 1 7 】

以下、本開示を実施するための形態について、添付の図面を参照して詳細に説明する。なお、本開示は、以下に示す各実施形態に限定されるものではない。また、説明は、以下の順序で行う。

## 1. 第 1 の実施の形態

(2 種類の放射面鏡を用いた蛍光検出用光学系の例)

## 2. 第 1 の実施形態の変形例

(平面鏡を備える蛍光検出用光学系の例)

20

## 2. 第 2 の実施の形態

(第 1 の実施形態の蛍光検出用光学系を備えた微小粒子分析装置の例)

## 【 0 0 1 8 】

## &lt; 1. 第 1 の実施の形態 &gt;

## [全体構成]

先ず、本開示の第 1 の実施形態に係る蛍光検出用光学系について説明する。図 1 は本開示の第 1 の実施形態に係る実施形態の蛍光検出用光学系の構成例を示す概念図である。図 1 に示すように、本実施形態の光学系 10 は、試料（物点 3）から発せられた蛍光 5 を検出系に導くものであり、2 枚の放物面鏡 1, 2 を備えている。そして、本実施形態の光学系 10 では、試料（物点 3）から出射され、異なる方向から入射した蛍光 5 が、放物面鏡 1 で反射され、平行光として放物面鏡 2 に入射し、その後、放物面鏡 2 によって反射されて一点（像点 4）に集光される構成となっている。

30

## 【 0 0 1 9 】

## [放物面鏡 1, 2]

放物面鏡 1, 2 の反射面の曲率は、特に限定されるものではなく、光学系の光学倍率に応じて適宜設定することができる。例えば、図 1 に示す構成例では、反射面の曲率が大きく、焦点距離が短い放物面鏡 1 を物点 3 側に配置しているが、反射面の曲率が小さく、焦点距離が長い放物面鏡 2 を物点 3 側に配置してもよい。また、本実施形態の光学系 10 では、反射面の曲率が同じで、焦点距離が等しい 2 枚の放物面鏡を使用することもできる。

40

## 【 0 0 2 0 】

一方、本実施形態の光学系 10 においては、例えば試料に励起光を照射する必要がある場合などは、放物面鏡 1 と放物面鏡 2 とを間隔をあけて配置し、励起光が、放物面鏡 1 と放物面鏡 2 との間を通過して、試料に照射されるようにしてもよい。これにより、省スペース化を実現することができる。また、放物面鏡 1 と放物面鏡 2 との間の蛍光 5 は、平行光となっているため、光学フィルタ設計が容易となり、励起光と蛍光 5 との分離性能を向上させることができる。なお、図 1 には、放物面鏡 1 と放物面鏡 2 とを間隔をあけて配置した構成例を示しているが、本開示はこれに限定されるものではなく、当然ながら、間隔を空けずに配置することも可能である。

## 【 0 0 2 1 】

50

## [ 軸外特性 ]

本実施形態の光学系 10 は、光学倍率  $M$  と、光軸折り曲げ角度差  $\Delta\theta$  との関係が、下記数式 2 を満たすことが好ましい。ここで、光学倍率  $M$  は、放物面鏡 2 の疑似焦点距離  $f_2$  と、放物面鏡 1 の疑似焦点距離  $f_1$  との比 ( $f_2 / f_1$ ) であり、光軸折り曲げ角度差  $\Delta\theta$  は、放物面鏡 2 による光軸折り曲げ角度  $\theta_2$  と、放物面鏡 1 による光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  との差 ( $\theta_2 - \theta_1$ ) である。

【 0 0 2 2 】

【 数 2 】

$$\Delta\theta = a \ln \beta + b$$

10

ただし、 $49 \leq a \leq 60$ 、 $-2 \leq b \leq 8$

【 0 0 2 3 】

図 2 は放物面鏡 1 での光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  が  $70^\circ$  のときの光軸折り曲げ角度差  $\Delta\theta$  と、軸外特性 (軸外収差) との関係を示すグラフ図である。また、図 3 は光軸折り曲げ角度差  $\Delta\theta$  と光学倍率  $M$  との関係を示すグラフ図である。図 2 に示すように、軸外収差量が最小となる光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  は、光学倍率  $M$  によって異なる。即ち、放物面鏡 1 による光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  を固定した場合、最良の軸外特性を得るには、光学倍率  $M$  に応じて放物面鏡 2 による光軸折り曲げ角度  $\theta_2$  を変えればよい。

20

【 0 0 2 4 】

また、本実施形態の光学系 10 では、光軸を含む面内 (メリディオナル面) の軸外特性が非対称であるため、プラス (+) 面側とマイナス (-) 面側それぞれについて検討を行った。その結果、図 3 に示すように、プラス (+) 面側とマイナス (-) 面側とで僅かな乖離はあるものの、放物面鏡 1 による光軸折り曲げ角度  $\theta_1$  より、上記数式 2 で表される関数で近似することができる。そして、上記数式 2 に示す  $a$ 、 $b$  が、 $49 \leq a \leq 60$ 、かつ、 $-2 \leq b \leq 8$  の範囲内になるように、折り曲げ角度  $\theta_2$  を調整することにより、軸外特性が優れた光学系を実現することができる。

【 0 0 2 5 】

[ 開口数 NA ]

30

試料から発せられた蛍光 5 が先に入射する放物面鏡 1 には、検出感度向上の観点から、開口数 NA が 0.5 以上のものを使用することが好ましい。なお、放物面鏡 2 の開口数 NA は、特に限定されるものではなく、設定又は要求される光学倍率に応じて適宜選択することができる。

【 0 0 2 6 】

[ 動作 ]

次に、本実施形態の光学系 10 の動作を説明する。本実施形態の光学系 10 では、試料 (物点 3) から発せられた蛍光 5 が、放物面鏡 1 に入射する。そして、異なる位置に入射した蛍光 5 は、放射面鏡 1 で反射されることにより、相互に平行な平行光となり、放射面鏡 2 に入射する。そして、放射面鏡 2 で反射されることにより、同一の像点 4 に集光される。即ち、本実施形態の光学系 10 では、試料から異なる方向に出射された光を、一点に集めることができる。

40

【 0 0 2 7 】

以上詳述したように、本実施形態の光学系 10 では、2 枚の放物面鏡 1、2 によって、異なる位置に入射した複数の蛍光 5 が一点 (像点 4) に集光される構成となっている。これにより、軸外特性や集光効率が向上するため、蛍光 5 の検出感度を向上させることができる。また、放物面鏡 1 から放物面鏡 2 への光が平行光束となるため、モジュールを組み立てる際の光軸調整が容易になる。その結果、マルチビーム測定においても、高感度で蛍光 5 を検出することが可能となる。

【 0 0 2 8 】

50

## < 2 . 第 1 の実施の形態の変形例 >

次に、本開示の第 1 の実施形態の変形例に係る蛍光検出用光学系について説明する。図 4 ( a ) は図 1 に示す光学系 1 0 の光路とスポットサイズを示す概念図であり、図 4 ( b ) は放物面鏡 2 の向きを変えた場合の光路とスポットサイズを示す概念図である。また、図 5 は本変形例の蛍光検出用光学系の構成例を示す概念図である。図 5 に示すように、本変形例の光学系 3 0 には、2 枚の放物面鏡 1 , 2 に加えて、放物面鏡 1 で反射された蛍光 5 を、放物面鏡 2 に向けて反射する平面鏡 6 が設けられている。

### 【 0 0 2 9 】

図 1 に示す光学系 1 0 では、物点 3 及び像点 4 は、いずれも放物面鏡 1 , 2 の反射面側 ( 前方 ) に位置しており、蛍光 5 の光路は略コ字状になっている。この構成の場合、例えばフローサイトメータなどのように、流路内を通流するサンプルからの蛍光を検出するような系では、流路を遮ってしまうことがある。一方、像点 4 が放物面鏡 1 の裏面側 ( 後方 ) に位置するように放物面鏡 2 を配置し、図 4 ( b ) に示すような蛍光 5 の光路が略 Z 字状となる構成にすると、図 4 ( a ) に示す構成に比べて、ビームスポットが大きくなり、検出感度が低下する。

### 【 0 0 3 0 】

そこで、本変形例の光学系 3 0 では、放物面鏡 1 と放物面鏡 2 との間に、平面鏡 6 を配置して、放物面鏡 1 で反射された蛍光 5 が、平面鏡 6 を介して放物面鏡 2 に入射する構成としている。これにより、ビームスポットを拡大させずに、像点 4 を放物面鏡 1 の裏面側 ( 後方 ) にすることができる。その結果、フローサイトメータに適用した場合でも、流路を遮ることなく、高感度で蛍光 5 を検出することが可能であり、装置の省スペース化も実現することができる。

### 【 0 0 3 1 】

また、本変形例の光学系 3 0 において、試料に励起光を照射する必要がある場合は、例えば放物面鏡 1 や平面鏡 6 に励起光が通過できる程度の孔を設ける方法、各ミラー間や焦点間にフィルタなどを配置して励起光を導入する方法などを採用することができる。なお、本変形例の光学系 3 0 における上記外の構成及び効果は、前述した第 1 の実施形態と同様である。

### 【 0 0 3 2 】

## < 3 . 第 2 の実施の形態 >

### [ 全体構成 ]

次に、本開示の第 2 の実施形態に係る微小粒子分析装置について説明する。図 6 は本実施形態の微小粒子分析装置の構成を示す概念図である。本実施形態の微小粒子分析装置は、前述した第 1 の実施形態の光学系 1 0 又は第 1 の実施形態の変形例の光学系 3 0 を備えるものであり、図 6 に示すように、少なくとも、複数の光源 1 1 a ~ 1 1 c と、複数の光検出器 1 9 とが設けられている。そして、実施形態の微小粒子分析装置では、波長の異なる複数の励起光 2 0 a ~ 2 0 c を、流路 1 3 を通流する試料に照射し、それにより生じる複数の蛍光 5 a ~ 5 c を、それぞれ対応する光検出器 1 9 で検出するマルチビーム測定を行う。

### 【 0 0 3 3 】

#### [ 光源 1 1 a ~ 1 1 c ]

光源 1 1 a ~ 1 1 c は、測定内容などに応じて適宜選択することができるが、例えばレーザーダイオード、SHG (Second Harmonic Generation) レーザ、ガスレーザー及び高輝度 LED (Light Emitting Diode: 発光ダイオード) などを使用することができる。

### 【 0 0 3 4 】

#### [ 流路 1 3 ]

試料が通流する流路 1 3 は、試料を含むサンプル液の周囲をシース液で囲んで層流を形成し、励起光 2 0 a ~ 2 0 c が照射される測定領域において、試料が一行に並んで通流するような構成となっている。流路 1 3 の形態は特に限定されるものではないが、例えばマイクロ流路 1 3 が形成された分析チップなどを使用することができる。

## 【 0 0 3 5 】

## [ 検出部 ]

光源 1 1 a ~ 1 1 c との間には、励起光 2 0 a ~ 2 0 c を透過し、蛍光 5 a ~ 5 c を反射するハーフミラー 1 2 が配置されており、このハーフミラー 1 2 と流路 1 3 との間には、蛍光検出用光学系 1 0 が配設されている。この場合、蛍光検出用光学系 1 0 の放物面鏡 1 と放物面鏡 2 とは間隔をあけて配置されており、励起光 2 0 a ~ 2 0 c は、放物面鏡 1 と放物面鏡 2 との間を通過して、流路 1 3 を通流する微小粒子に照射される。

## 【 0 0 3 6 】

一方、流路 1 3 を通流する微小粒子から発せられた複数の蛍光 5 a ~ 5 c は、蛍光検出用光学系 1 0 , 3 0 内で反射され、それぞれハーフミラー 1 2 に集光される。このように、励起光 2 0 a ~ 2 0 c が、ハーフミラー 1 2 や蛍光検出用光学系 1 0 , 3 0 を通過して、微小粒子に照射される構成とすることで、装置を小型化することが可能となる。

10

## 【 0 0 3 7 】

更に、検出部には、例えば、蛍光 5 a ~ 5 c を光検出器 1 9 に導く光ファイバ 1 5 や、ハーフミラー 1 2 で反射された蛍光 5 a ~ 5 c を各光ファイバ 1 5 に集光するファイバ・カップリングレンズ 1 4 など設けられている、また、光ファイバ 1 5 と各光検出器 1 9 との間には、それぞれコリメータレンズ 1 6、ミラー 1 7、ロングパスフィルタ 1 8 などが設けられている。

## 【 0 0 3 8 】

ここで、光検出器 1 9 は、試料から発せられる蛍光 5 a ~ 5 c を検出可能なものであればよく、特に限定されるものではないが、例えば 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。また、光検出部には、その他必要に応じて、各種光学部品を配設することができる。

20

## 【 0 0 3 9 】

## [ 微小粒子分析装置の動作 ]

次に、本実施形態の微小粒子分析装置により、微小粒子などの試料を測定する方法について説明する。なお、本実施形態の微小粒子分析装置により測定される試料は、励起光 2 0 a ~ 2 0 c を照射することにより、蛍光 5 a ~ 5 c を発するものであればよく、例えば、細胞やマイクロビーズなどの微小粒子、ウイルス、バクテリア、酵母などが挙げられる。また、試料は、1 又は複数の蛍光色素で修飾されていてもよい。

30

## 【 0 0 4 0 】

本実施形態の微小粒子分析装置では、先ず、光源 1 1 a ~ 1 1 c から、マイクロ流路 1 3 に向けて励起光 2 0 a ~ 2 0 c を出射する。この励起光 2 0 a ~ 2 0 c は、ハーフミラー 1 2 及び蛍光検出用光学系 1 0 , 3 0 を通過し、マイクロ流路 1 3 を通流する試料 (微小粒子) に照射される。このとき、測定対象の試料はマイクロ流路 1 3 内を一列に並んで通流しているため、各試料に励起光 2 0 a ~ 2 0 c を個別に照射することができる。

## 【 0 0 4 1 】

これにより、試料からは励起光 2 0 a ~ 2 0 c よりも長波長の蛍光 5 a ~ 5 c が放出される。そして、蛍光 5 a ~ 5 c は、蛍光検出用光学系 1 0 により、それぞれハーフミラー 1 2 に集光され、ファイバ・カップリングレンズ 1 4 を介して、各光ファイバ 1 5 に導入される。その後、コリメータレンズ 1 6、ミラー 1 7、ロングパスフィルタ 1 8 などを介して、各光検出器 1 9 で検出される。

40

## 【 0 0 4 2 】

以上詳述したように、本実施形態の微小粒子分析装置では、前述した第 1 の実施形態の光学系 1 0 又は第 1 の実施形態の変形例の光学系 3 0 を備えているため、軸外特性に優れる。また、本実施形態の微小粒子分析装置は、蛍光検出用光学系 1 0 , 3 0 によって、蛍光を、より小さなスポットに集光することができるため、光ファイバ 1 5 にカップリングする際のカップリング効率が向上する。その結果、マルチビーム測定においても、高感度で蛍光を検出することが可能となる。

## 【 0 0 4 3 】

50



なお、本開示は、以下のような構成をとることもできる。

(1)

2枚の放物面鏡を備え、

異なる方向から入射した蛍光が、第1の放物面鏡により平行光として第2の放物面鏡に向けて反射され、第2の放物面鏡によって一点に集光される構成の蛍光検出用光学系。

(2)

前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡は、反射面の曲率が相互に異なる(1)に記載の蛍光検出用光学系。

(3)

前記第2の放物面鏡の疑似焦点距離 $f_2$ と、前記第1の放物面鏡の疑似焦点距離 $f_1$ との比( $f_2/f_1$ )を $\beta$ とし、前記第2の放物面鏡による光軸折り曲げ角度 $\theta_2$ と、前記第1の放物面鏡による光軸折り曲げ角度 $\theta_1$ との差( $\theta_2 - \theta_1$ )を $\Delta\theta$ としたとき、これらの関係が下記数式(A)を満たす(1)又は(2)に記載の蛍光検出用光学系。

$$\Delta\theta = a \ln \beta + b \quad \dots (A)$$

(ただし、 $49 \leq a \leq 60$ ,  $-2 \leq b \leq 8$ )

(4)

第1の放物面鏡の開口数NAが0.5以上である(1)~(3)のいずれかに記載の蛍光検出用光学系。

(5)

更に、前記第1の放物面鏡で反射された蛍光を第2の放物面鏡に向けて反射する平面鏡を備える(1)~(4)のいずれかに記載の微小粒子分析装置。

(6)

前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡とが間隔をあけて配置されている(1)~(5)のいずれかに記載の蛍光検出用光学系。

(7)

(1)~(6)のいずれかに記載の蛍光検出用光学系を備える微小粒子分析装置。

(8)

2以上の光源と複数の光検出器とを備え、前記光源から励起光を出射し、該励起光が照射された微小粒子から発せられる光を前記光検出器で検出する検出部を有し、

該検出部に前記第1及び第2の放物面鏡が配置されている(7)に記載の微小粒子分析装置。

(9)

前記検出部には、前記第1の放物面鏡で反射された蛍光を前記第2の放物面鏡に向けて反射する平面鏡が設けられており、

前記蛍光は、前記第2の放物面鏡によって前記第1の放物面鏡の後方側に反射される(8)に記載の微小粒子分析装置。

(10)

前記第1及び第2の放物面鏡は、測定対象の微小粒子と、励起光を透過し蛍光を反射するハーフミラーとの間に配置され、

前記微小粒子から発せられた複数の蛍光を、前記ハーフミラーに向けて集光する(8)又は(9)に記載の微小粒子分析装置。

(11)

前記第1の放物面鏡と前記第2の放物面鏡とが間隔をあけて配置されており、

前記励起光は、第1の放物面鏡と第2の放物面鏡との間を通過して、前記微小粒子に照射される(8)~(10)のいずれかに記載の微小粒子分析装置。

【符号の説明】

【0044】

10

20

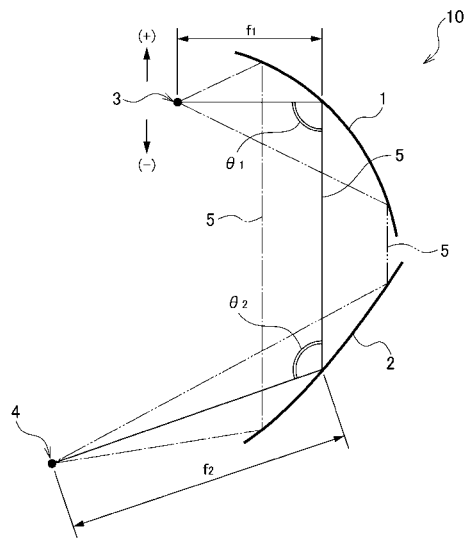
30

40

50

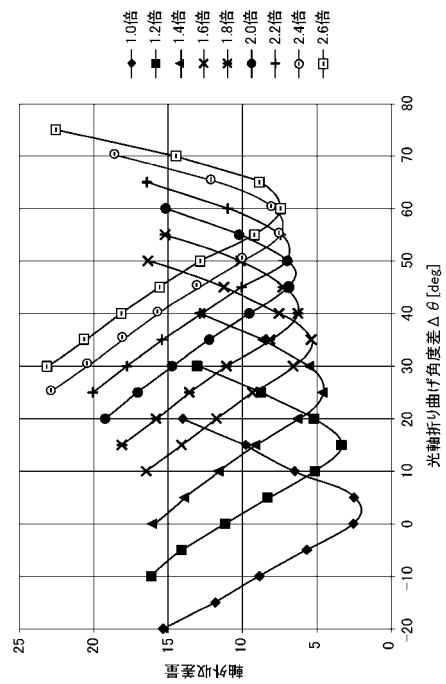
- 1、2 放物面鏡
- 3 物点
- 4 像点
- 5、5 a ~ 5 c 蛍光
- 6 平面鏡
- 10、30 光学系
- 11 a ~ 11 c 光源
- 12、17 ミラー
- 13 流路
- 14 ファイバ・カップリングレンズ
- 15 光ファイバ
- 16 コリメータレンズ
- 18 ロングパスフィルタ
- 19 受光器
- 20 a ~ 20 c 励起光

【 図 1 】

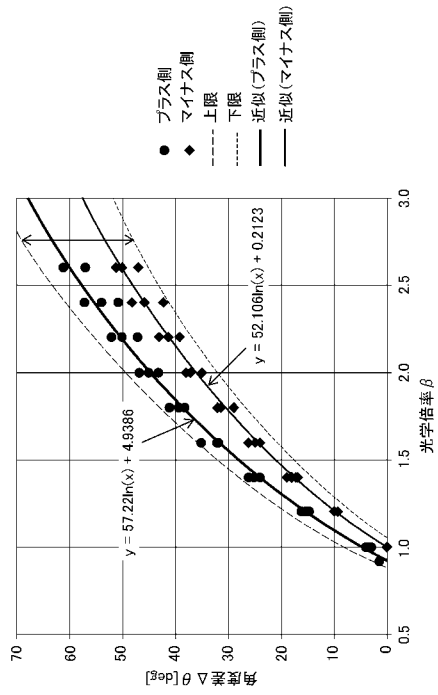


1, 2: 放物面鏡 3: 物点 4: 像点 5: 蛍光 10: 光学系  
 $f_1, f_2$ : 疑似焦点距離  $\theta_1, \theta_2$ : 光軸折り曲げ角度

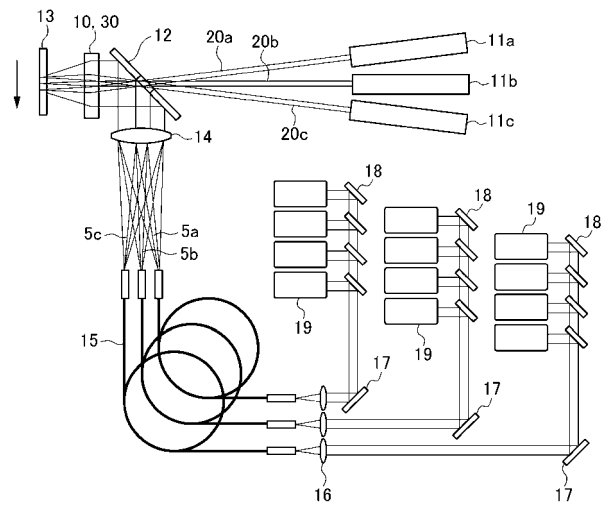
【 図 2 】



【 図 3 】

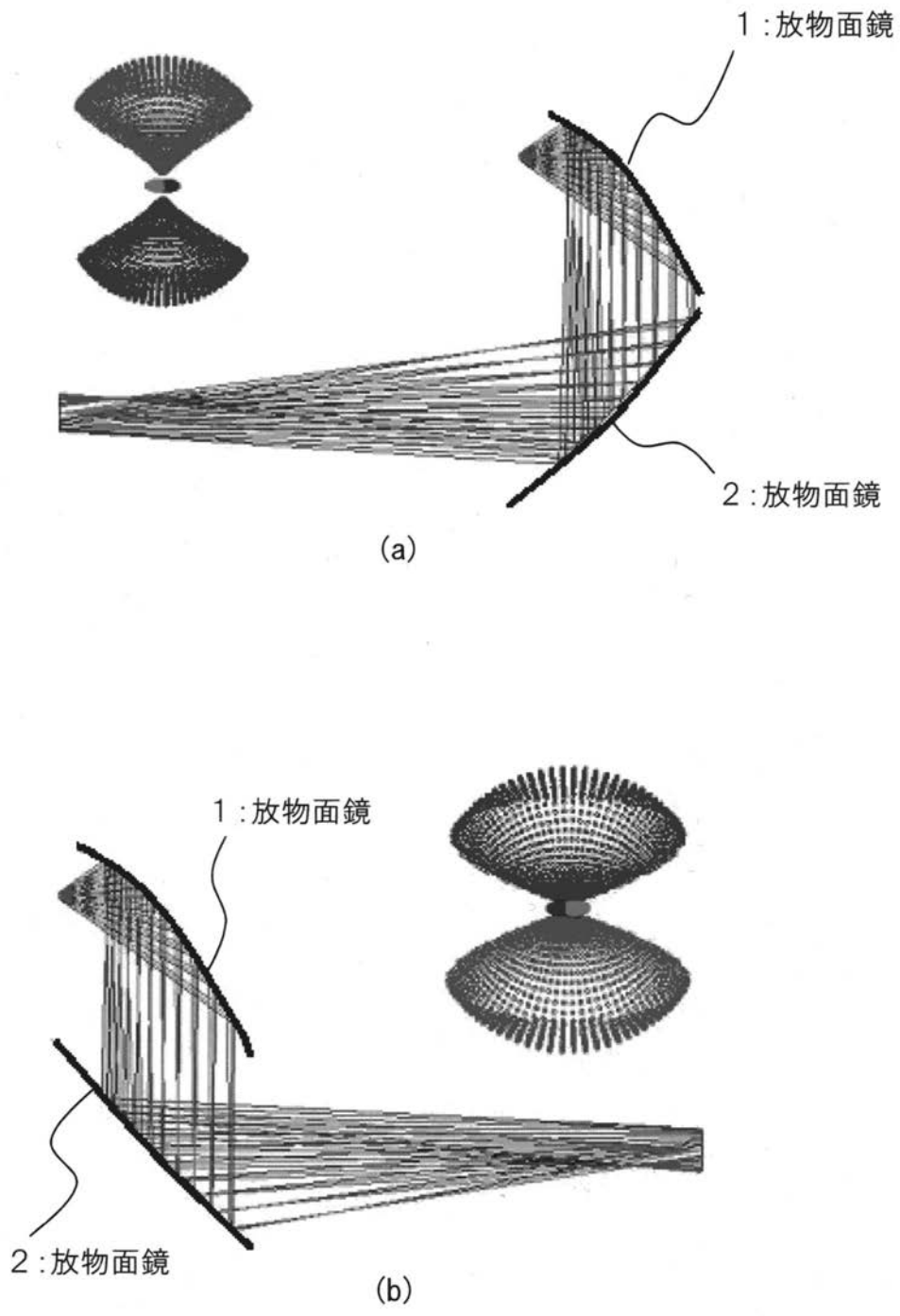


【 図 6 】

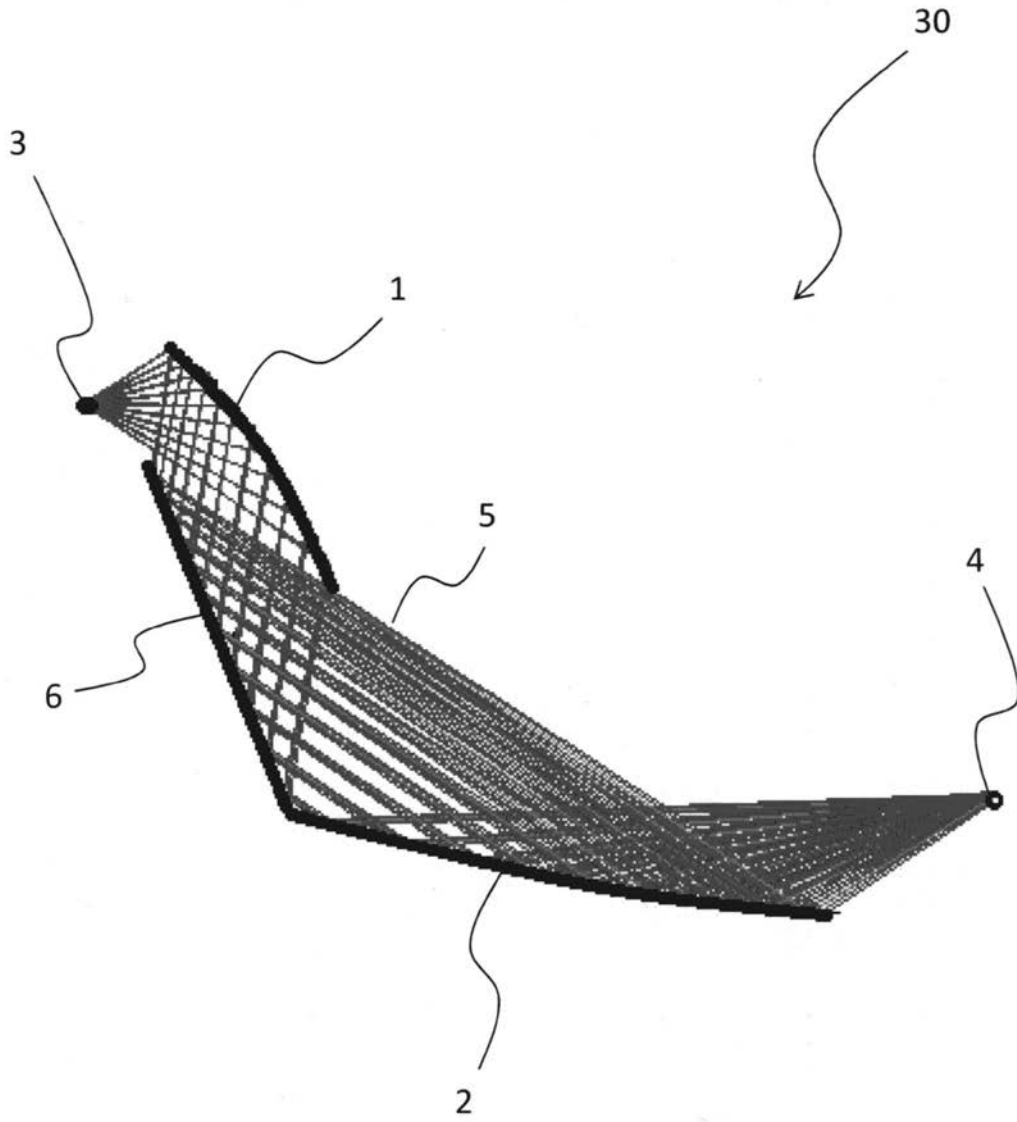


5a~5c: 蛍光 10,30: 光学系 11a~11c: 光源 12, 17: ミラー  
 13: 流路 14: ファイバ・カップリングレンズ 15: 光ファイバ  
 16: コリメータレンズ 18: ロングパスフィルタ 19: 光検出器  
 20a~20c: 励起光

【 图 4 】



【 図 5 】



1, 2 : 放物面鏡    3 : 物点    4 : 像点    5 : 蛍光    30 : 光学系