

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B1)

(11)特許番号

特許第7394425号  
(P7394425)

(45)発行日 令和5年12月8日(2023.12.8)

(24)登録日 令和5年11月30日(2023.11.30)

(51)Int. Cl. F I  
 G 0 1 N 27/72 (2006.01) G 0 1 N 27/72  
 G 0 1 R 33/10 (2006.01) G 0 1 R 33/10

請求項の数 9 (全 23 頁)

<p>(21)出願番号 特願2023-131720(P2023-131720)                  (22)出願日 令和5年8月11日(2023.8.11)                  審査請求日 令和5年8月19日(2023.8.19)                   早期審査対象出願</p>	<p>(73)特許権者 713000630                  マグネデザイン株式会社                  愛知県知多郡美浜町大字豊丘字北平井2番地4                   (72)発明者 本蔵 義信                  愛知県知多郡東浦町大字緒川字東仙台33番地の10                   (72)発明者 本蔵 晋平                  愛知県知多郡東浦町大字緒川字東仙台33番地の10                   審査官 村田 顕一郎</p>
--	--

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 磁気顕微鏡

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞観察用シャーレと磁気センサ素子グリッド基板と信号処理回路と表示装置とを備えている磁気顕微鏡において、

前記シャーレは、上面に細胞液を載せるとともに底面に前記磁気センサ素子グリッド基板を配置することが可能で、

前記シャーレは、底面の厚みは300 μm以下で、その底面外側部の平坦度は5 μm以下に平坦化されており、

前記磁気センサ素子グリッド基板は、基板上に配置された磁気センサ素子グリッドと磁気センサ素子グリッド回路とそれらを保護する被覆部と外部接続端子とからなり、

前記被覆部は、上面は平坦度5 μm以下に平坦化され、

前記シャーレは前記磁気センサ素子グリッド基板の前記被覆部の上面に固定され、前記磁気センサ素子グリッド基板は細胞観察架台に観察中に移動しないように固定されており、

前記信号処理回路は、前記磁気センサ素子グリッドにより細胞内に流れる電流素片から生じる微小磁界に対応するグリッド電圧を検知して、前記グリッド電圧をグリッド磁界の値に変換し、

前記表示装置は、前記磁気センサ素子グリッドにて前記基板上的X軸とY軸に沿った碁盤目状の交点の位置に磁気センサ素子を配置して、交点の位置の磁界を測定し、

前記グリッド磁界の絶対値を等高線図として表示することを特徴とする磁気顕微鏡。

## 【請求項 2】

請求項 1 において、

前記磁気センサ素子は、H z 磁界、H x 磁界、H y 磁界のいずれか 1 磁界を測定する 1 軸素子からなることを特徴とする磁気顕微鏡。

## 【請求項 3】

請求項 1 において、

前記磁気センサ素子は、H x 磁界および H y 磁界を測定する 2 軸素子からなることを特徴とする磁気顕微鏡。

## 【請求項 4】

請求項 1 において、

前記磁気センサ素子は、H x 磁界、H y 磁界および H z 磁界を測定する 3 軸素子からなることを特徴とする磁気顕微鏡。

10

## 【請求項 5】

請求項 1 ~ 請求項 4 のいずれか一項 において、

前記グリッド磁界の値から細胞内に流れる前記電流素片を計算するプログラムおよび前記プログラムにより計算した値をイメージ画像としてスクリーンに表示する前記表示装置からなることを特徴とする磁気顕微鏡。

## 【請求項 6】

請求項 5 において、

細胞内の前記電流素片から発する磁界を前記磁気センサ素子グリッドの ( i , j ) 番の位置にある磁気センサで測定してその測定値を  $m H_{ij}$  ( ) とし、 $m H_{ij}$  絶対値の等高線図を作成し、

20

前記  $m H_{ij}$  ( ) のピークから前記電流素片  $I d s$  の位置  $P ( x , y , z )$  を仮定し、前記  $m H_{ij}$  ( ) のピークの山の広がりから前記電流素片  $I d s$  の長さを仮定して、細胞集合体内に  $n$  個の前記電流素片  $I d s$  が存在しているとの計算モデルを作成し、

次に、 $k$  番目の前記電流素片  $I_k d s_k$  の位置  $P_k ( x_k , y_k , z_k )$  とし、磁界の測定位置  $G_{ij} ( x_{ij} , y_{ij} , 0 )$  として前記電流素片位置  $P_k ( x_k , y_k , z_k )$

と前記磁界測定位置  $G_{ij} ( x_{ij} , y_{ij} , 0 )$  との距離  $R_{ijk}$  とすると、

$k$  番目の前記電流素片  $I_k d s_k$  が前記磁気センサ素子グリッド基板上に作る磁界は、それぞれ  $H_k ( ) = 1 / 4 R_k^3 \times I_k d s_k ( ) \times R_k ( )$  の方程式から求める

30

ことができるので、それらの磁界を加算して、前記磁気センサ素子グリッドの測定位置  $G ( i , j )$  番の位置に作る理論値  $t H_{ij} ( )$  とし、

両者の誤差を  $e_{ij} ( ) = m H_{ij} ( ) - t H_{ij} ( )$  とし、

誤差関数  $E = ( e_{ij} )^2$  を作成し、

$I_k ( )$  の向きについては、XY 軸平面に対して、傾斜角を  $\theta_k$  とし、X 軸に対する角度を  $\phi_k$  とし、

この誤差関数から  $I_k$  と  $d s_k$  と  $\theta_k$  と  $\phi_k$  および  $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$  に関する  $7 n$  個の連立方程式を求め、その式から未知数を求め、

前記細胞集合体に流れる  $n$  個の前記電流素片  $I d s$  を計算し、その結果を用いて前記電流素片  $I d s$  の分布図を作成し、スクリーンに表示することを特徴とする磁気顕微鏡。

40

## 【請求項 7】

請求項 6 において、

最初に顕微鏡の測定環境の磁界を前記磁気センサ素子グリッドで測定し、その磁界平均および磁界分布を求め、磁気顕微鏡で細胞をリアルタイムで測定した時の値を補正する方法、または二組の前記磁気センサ素子グリッドを組み合わせて差動型素子として機能させる方法によって、外部の磁界環境を取り除くことを特徴とする磁気顕微鏡。

## 【請求項 8】

請求項 6 において、

前記細胞観察用シャーレ基板面の下方には前記磁気センサ素子グリッドを設置し、上方には落射型光学顕微鏡、または / および CCD カメラを設置して、細胞の形状と動きを光学

50

的に観察すると同時に磁氣的に観察することができることを特徴とする磁気顕微鏡。

【請求項 9】

請求項 6 において、

前記細胞観察用シャーレ基板面の下方には前記磁気センサ素子グリッド基板の材質を透明素材とする前記磁気センサ素子グリッドを設置し、上方には透過型光学顕微鏡、または / および CCD カメラを設置して、細胞の形状と動きを光学的に観察すると同時に磁氣的に観察することができることを特徴とする磁気顕微鏡。

10

20

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、細胞研究で使用される透過型または落射型の光学顕微鏡で観察されている細胞の構造や動きと同時に、細胞集合体内から発する磁界と磁界を生み出すもとである電流素片を測定することによって、細胞集合体全体の活力を観察する磁気顕微鏡に関する。

【背景技術】

【0002】

iPS 細胞などの細胞の生育観察を行う場合、光学顕微鏡による細胞体の形態変化や運動観察に加えて、細胞集合体内に流れる電流素片を観察して、細胞集合体全体の活力を観察することが求められている。

40

【0003】

しかし、細胞の大きさは 20  $\mu\text{m}$  程度でその集合体の大きさは 5 mm 以下である。このような微細な細胞内に流れる電流から発する磁界を測定して、電流素片の強さと方向からその細胞の活力が予測される。しかし、現在そのような微細な細胞内に流れる電流素片を測定できる磁気顕微鏡は知られていない。

ここで、磁気顕微鏡とは、微小な細胞から発する微小な磁界を検出し、細胞形状に即して、そのサイズを倍率 100 倍から 1000 倍に増幅して、磁界の分布または磁界の素とな

50

る電流素片の分布を観察する装置であると定義することができる(図1)。

【0004】

なお、磁気センサを利用した細胞評価装置が、特許文献1に開示されている。その文献の図17に直径20 $\mu\text{m}$ のアモルファスワイヤを80 $\mu\text{m}$ 間隔で碁盤目状構造に配置し、各ワイヤの両端から高周波交流電流を通電して両端の電圧からアモルファスワイヤのインピーダンスを測定して、ワイヤの交点の磁界 $H_x$ または $H_y$ を測定できると記載されている。

しかし、磁気インピーダンスセンサは、ワイヤ両端に電圧をかけて交流電流を通電した時に、流れるワイヤに係る磁界の平均値をとるものであって、交点の磁界を単独に測定できないことは理論的に明らかである。事実、本発明を裏付ける論文は発表されていないし、製品も販売されていない。

10

【0005】

発明者は、おそらくグリッド( $i, j$ )番目に素子を配置して、 $i$ 番目のワイヤから $j$ 番目のワイヤに交流電流が流れるようにスイッチ操作をして、( $i, j$ )番目に配置した素子だけを駆動させるグリッドセンサ、この種のタイプのセンサは広く知られているが、その技術と勘違いしているように思われる。つまり、2mm間隔以下の碁盤目状に磁気センサが配置された磁気グリッドセンサは、いまだ開発されていない。

【0006】

細胞から発する磁界は細胞直上で10nT以下程度と考えられる。特許文献1によると1nT以下と説明しているが、センサの測定位置が細胞体から900 $\mu\text{m}$ と離れているが、本発明は300 $\mu\text{m}$ 以下を想定しており、発生する磁界が距離の自乗に反比例することから、両者の見解は整合していると言える。

20

【0007】

その磁界を検出するための磁気センサ素子のサイズは、細胞のサイズを考慮すると、10 $\mu\text{m}$ ~500 $\mu\text{m}$ 程度が求められる。現在知られているGSRセンサは、長さ500 $\mu\text{m}$ の場合には検出力は15nT程度であり、上記要求を満たす小型で高感度の磁気センサは知られていない。しかもこの磁気センサ素子をX軸とY軸にグリッド上に緻密に多数個グリッド状に配置する製造技術も確立されていない。

【0008】

小型で高感度な磁気センサとそれを使った磁気センサグリッドを開発して、磁気顕微鏡の開発が求められている。なお、磁気顕微鏡に関する先行技術文献について、j platpatによる検索では見出すことができなかった。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

特許第5526384号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、20 $\mu\text{m}$ サイズの細胞から発する磁界を測定し、細胞内に発生する微小な磁界とその素となる電流素片を観察することによって細胞の活力を計測するものである。

40

【0011】

本発明者は、小型GSRセンサを開発し、その素子をX軸とY軸に沿った碁盤目状の複数列のグリッド線上に、各列に沿って複数個配置すれば20 $\mu\text{m}$ 程度大きさの細胞を観察する磁気顕微鏡を発明できるのではとの考えを思いついた。

【0012】

具体的には、前記光学顕微鏡で観察中のシャーレの下側に、X軸とY軸に沿って碁盤目状に多数の磁気センサを配置した磁気センサグリッドを取り付けて、微小磁界を測定し、その測定値から電流素片を算出すれば、細胞レベルの微小磁界と電流素片と細胞の活性度がリアルタイムで測定できるのではとの着想であった。そして、その実用可能性の検討を行

50

った結果、以下の6つの課題が横たわっていることに思い至った。

【0013】

そのための技術開発課題として、

第1の課題は、検出力が $1\text{ pT} \sim 10\text{ nT}$ 程度で、サイズが $10\text{ }\mu\text{m} \sim 2\text{ mm}$ 以下の磁気センサを開発することである。具体的には現状のGSRセンサの小型化と高性能化を図ることであるが、磁気センサの検出力はサイズに比例し、両者の間には背反性が存在し、両特性を同時に改善するのは難しい課題である。

【0014】

第2の課題は、ASIC基板の上に、磁気センサ素子をX軸とY軸に沿ってグリッド上に100個～400万個程度配置する技術を開発することである。なお素子の数は、40倍～1,000倍の倍率および10mm径～50mm径程度の測定面積によって選択すべき課題である。

10

【0015】

第3の課題は、電流素片から発する磁界を磁気センサ素子グリッドで測定し、それから細胞集合体に流れる電流素片分布および磁界分布の等高線図を計算して、イメージ画像をスクリーンに表示するプログラムを開発する課題である。

【0016】

第4の課題は、超高密度に配置された磁気センサグリッドを使って、イメージ画像の画素の大きさを $20\text{ }\mu\text{m}$ 程度とし、磁界分布の分解能を $1\text{ }\mu\text{m}$ 程度にして、倍率1,000の磁気顕微鏡を開発することである。

20

【0017】

第5の課題は、外部の磁界を取り除くために使用する磁気シールドボックスを不用にすることである。

【0018】

第6の課題は、細胞を載せたシャーレの上方に落射型または透過型の光学顕微鏡と磁気顕微鏡で同時に細胞観察を可能にすることである。

【課題を解決するための手段】

【0019】

第1の課題については、磁気センサとして、GSRセンサを採用した。コイルピッチを $0.1\text{ }\mu\text{m} \sim 3\text{ }\mu\text{m}$ とし、および磁性ワイヤの本数を必要に応じて複数本設置することで、コイル巻き数を150回～2,000回として、検出力は $1\text{ pT} \sim 50\text{ pT}$ と高感度化する。GSRセンサを小型で高感度化を実現することでこの問題を解決できる。GSRセンサ素子を図2に示す。

30

【0020】

ここで、GSRセンサについては、本発明者による特許公報第5839527号公報に詳細に記載されており、本発明において引用する。GSRセンサは、基板上に導電性を有する磁界検出用磁性ワイヤとそれに巻回した周回コイルで形成した検出用コイルと磁性ワイヤ通電用の電極2個とコイル電圧検出用電極2個の電極を接続する配線で構成されるGSR素子、およびその磁性ワイヤにGHzの周波数を持つパルス電流を流す手段とパルス電流を流した時に生じるコイル電圧を検知し、コイル電圧を外部磁界Hに変換する電子回路とからなる超高感度マイクロ磁気センサである。

40

【0021】

第2の課題については、多数個の素子をASIC基板の上に形成し、磁性ワイヤをX軸とY軸に沿って碁盤目状に貼り、そこにコイル配線と電極配線を焼き付ける技術を利用して、この課題を解決した。ASICと多数個の素子とはベアホールを使って接合した。ASICは、多数個の素子に対応して、素子1個に対応して多数個使用してもよいし、チャンネルの切り替え機能を有する多数個の素子を制御するASICを使用してもよい。磁気センサ素子グリッドを図3～図5に示す。

図3は磁気センサ素子グリッドの上面図、図4(図4A、図4B、図4C)は磁気センサ素子グリッドの単位素子の構造の平面図、図5(図5A、図5B、図5C)は磁気センサ

50

素子グリッドの断面図を示している。

【0022】

磁界の測定値としては、X軸素子とY軸素子の多数個の交点の磁界、図4A(a-1)は $H_z$ 、図4A(a-2)は $H_x$ 、図4A(a-3)は $H_y$ を計測し、それらの値をグリッドの磁界として、磁界分布および電流素片分布を計算する。すなわち、 $H_z = (H_{z1} + H_{z2} + H_{z3} + H_{z4})/4$ 、 $H_x = (H_{x1} + H_{x2} + H_{x3} + H_{x4})/4$ 、 $H_y = (H_{y1} + H_{y2} + H_{y3} + H_{y4})/4$ として求める。

【0023】

磁気センサ素子グリッド基板の被覆部の上面は平坦度 $5\mu\text{m}$ 以下に平坦化する。併せて、上記磁気センサ素子グリッド基板の被覆部上部の平坦度 $5\mu\text{m}$ 以下の平坦面と直接接触する細胞観察用シャーレの底面の外側も平坦度 $5\mu\text{m}$ 以下に平坦化する。これにより相互に接触する平坦面同士が密接に接触する。さらに観察用細胞から磁気センサ素子までの距離は $300\mu\text{m}$ 以下と小さくして、細胞から発する微小磁界の測定を容易にすることである。観察用細胞から磁気センサ素子までの距離が小さければ小さいほどよい。

【0024】

第3課題については、観察前に、磁気センサ素子グリッド位置 $(i, j)$ における磁界を計測して初期の磁界測定値 $mH_{ij}(\quad)(b)$ を求め、その値をX軸とY軸平面上のグリッドサイズに対応した磁界分布として表示する。

【0025】

次にシャーレに細胞を設置してから、磁気センサ素子グリッド位置 $(i, j)$ における磁界を計測して磁界測定値 $mH_{ij}(\quad)(a)$ を求め、そこから $mH_{ij}(\quad)(b)$ を差し引いて、測定値とする。すなわち、 $mH_{ij}(\quad) = mH_{ij}(\quad)(a) - mH_{ij}(\quad)(b)$ となる。

【0026】

この値を細胞集合体内の電流素片 $I_{ds}$ から発する磁界と考え、磁気センサ素子グリッドの $(i, j)$ 番の位置にある磁気センサで測定してその測定値を $mH_{ij}(\quad)$ とし、 $mH_{ij}$ 絶対値の等高線図を作成し、 $mH_{ij}(\quad)$ のピークから電流素片 $I_{ds}$ の位置 $P(x, y, z)$ と $mH_{ij}(\quad)$ のピークの山の広がりから電流素片 $I_{ds}(\quad)$ の長さを仮定して、細胞集合体内に電流素片 $I_{ds}$ が存在しているとする。ピークの箇所が $n$ 個ある場合、 $n$ 個の電流素片 $I_{ds}$ があると仮定して計算のモデルを作成する。

【0027】

次に、 $k$ 番目の電流素片 $I_{dsk}(\quad)$ の位置 $P_k(x_k, y_k, z_k)$ とし、磁界の測定位置 $G_{ij}(x_{ij}, y_{ij}, 0)$ として、前記電流素片位置 $P_k(x_k, y_k, z_k)$ と前記測定位置 $G_{ij}(x_{ij}, y_{ij}, 0)$ との距離 $R_{ijk}(\quad)$ とすると、 $k$ 番目の前記電流素片 $I_{dsk}(\quad)$ が前記測定位置 $G_{ij}$ 番の位置に作る磁界は、 $H_{ijk}(\quad) = 1/4 R_{ijk}^3 \times I_{dsk}(\quad) \times R_{ijk}(\quad)$ の基本方程式から求めることができるので、それらの磁界を加算して、前記磁気センサ素子グリッドの前記測定位置 $G_{ij}$ 番の位置に作る理論値 $tH_{ij}(\quad)$ は、 $tH_{ij}(\quad) = \sum_k tH_{ijk}(\quad)$ とする。(は、 $k$ を1から $n$ 個加算する。)

【0028】

両者の誤差を $e_{ij}(\quad) = mH_{ij}(\quad) - tH_{ij}(\quad)$ とし、誤差関数 $E = \sum (e_{ij})^2$ を作成し、

$I_k(\quad)$ の向きについては、XY軸平面に対して、傾斜角を $\theta_k$ として、X軸に対する角度を $\phi_k$ とし、この誤差関数からガウスニュートン法で誤差関数を偏微分して、 $7n$ 個の連立方程式を導出し、 $I_k$ の絶対値と $d_{sk}$ と $\theta_k$ と $\phi_k$ および $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$ とからなる $7n$ 個の連立方程式を求め、その式から $7n$ 個の未知数を求め、細胞集合体に流れる多数個の電流素片を計算し、その結果を用いて電流素片の分布図を作成し、スクリーンに表示することである。

【0029】

ここで、各ベクトル物理量のベクトル表示は $(\quad)$ を添付することにした。

10

20

30

40

50

磁気顕微鏡の磁界測定値から求めた磁界分布図を図6に示し、電流素片を求める計算プログラムのフローチャートを図7に示す。

なお、本発明は磁気顕微鏡の構成を旨としたものなので、誤差関数から電流素片ベクトルを算出する方法は上記方法に限られるものではない。

#### 【0030】

第4の課題については、磁気センサ素子グリッドの単位素子において、コイルピッチを $0.1\mu\text{m}$ として、素子の長さ $10\mu\text{m}$ 、磁性ワイヤの本数を2本とし、コイル巻き数を180回とすることで、センサグリッドの画素を $10\mu\text{m}\times 10\mu\text{m}$ とする。磁気センサの検出力は $5\text{pT}$ を確保する。これらの測定値から、磁界分布図を作成すると、磁界分布図の画素は $1\mu\text{m}$ 程度となり、倍率1000倍の磁気顕微鏡を得ることができる。

10

#### 【0031】

第5の課題については、最初に顕微鏡の測定環境の磁界を磁気センサ素子グリッドで測定し、その磁界平均および磁界分布を求め、磁気顕微鏡で細胞を測定した時の値を補正する方法よりも、磁気シールドを不用にできる。

また、二組の磁気センサ素子グリッドを組み合わせて、両者を組み合わせて差動型素子として機能させることによっても外部の磁界環境を取り除くこともできる。

#### 【0032】

第6の課題は、細胞を載せたシャーレの上方に光学顕微鏡、またはノおよびCCDカメラを設置し、シャーレの下側の磁気センサ素子グリッド基板の真下に、磁気顕微鏡を設置することで、両方の測定が同時に観察できる構造を考案した。透過型光学顕微鏡の場合には、磁気センサ素子グリッド基板の材質を透明にして、顕微鏡下方からの光の透過を可能にする。

20

#### 【0033】

なお、当然のことであるが、シャーレは磁気顕微鏡基板の上に固定され、両者は顕微鏡観察架台の上に固定され、観察中は移動しないようにしておくことである。固定する方法は、クリップなど機械的方法、接着剤などによる化学的方法などいずれの方法を採用してもよい。

#### 【0034】

次に、光学顕微鏡で観察した細胞の形状図の上に、磁気顕微鏡で測定した電流素片分布を重ねて、その画像をスクリーンに表示する。これによりリアルタイムで細胞の機械的運動と形状変化の動きと各細胞の活性化度の両方を容易に観察できるようにすることができる。

30

光学顕微鏡と磁気顕微鏡を一体としたイメージを図8および図9に示し、それぞれの観察結果(磁気顕微鏡はイメージ図)を図10に示す。

#### 【0035】

なお、磁界分解空間能を光学顕微鏡の分解能に一致させるために、離散的に測定した磁界測定値の中間の磁界は、補間法により磁界分布を関数近似して、その中間の位置での磁界の値を求めることにした。この補間法により、グリッド間隔の $1/20$ 程度の磁界空間分解能を得ることができる。

電流素片の位置精度は、電流素片の位置を算出するプログラムから、理論的にグリッド間隔の $1/20$ 程度の精度となることを確認した。

40

#### 【0036】

以上の6つの解決策を組み合わせて、磁気顕微鏡を発明することができた。

なお、本発明は、小型かつ高感度の磁気センサを対象としており、GSRセンサに限るものでない。このことはその構成から明白である。

#### 【発明の効果】

#### 【0037】

本発明により、細胞観察に細胞の活力度合いを観察できるようになる。しかも光学顕微鏡と一体化することで形状とその動きの様子と個々の細胞の活力がリアルタイムかつ同時に測定することができるようになり、細胞の研究の基本ツールになることが期待される。

50

## 【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】磁気顕微鏡のイメージ図である。(a)は斜視図で、(b)は側面図である。

【図2】GSRセンサ素子を示す図である。

【図3】磁気センサ素子グリッドの平面図である。

【図4A】磁気センサ素子のグリッド単位の平面図で、Z軸素子またはX軸素子またはY軸素子からなる1軸素子を示す図である。

【図4B】磁気センサ素子のグリッド単位の平面図で、X軸素子およびY軸素子からなる2軸素子を示す図である。

【図4C】磁気センサ素子のグリッド単位の平面図で、素子台座に配置されているX軸素子およびY軸素子からなる3軸素子を示す図である。

10

【図5A】1軸素子グリッドにて、z軸タイプ、x軸タイプ、y軸タイプのA1 - A2線の断面図である。シャーレおよび細胞液との組み合わせ図である。

【図5B】2素子グリッドのA1 - A2線の断面図である。シャーレおよび細胞液との組み合わせ図である。

【図5C】3素子グリッドのA1 - A2線の断面図である。シャーレおよび細胞液との組み合わせ図である。

【図6】磁気顕微鏡の磁界測定値から求めた磁界分布図である。

【図7】電流素片を求める計算プログラムのフローチャートを示す図である。

【図8】落射型光学顕微鏡と磁気顕微鏡を一体としたイメージ図である。

20

【図9】透過型光学顕微鏡と磁気顕微鏡を一体としたイメージ図である。

【図10】磁気顕微鏡の観察結果のイメージ図である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0039】

本発明の第1実施形態は、以下の通りである。

細胞観察用シャーレと磁気センサ素子グリッド基板と信号処理回路と表示装置とを備えている磁気顕微鏡において、

前記シャーレは、上面に細胞液を載せるとともに底面に磁気センサ素子グリッド基板を配置することが可能で、

前記シャーレは、底面の厚みは300 $\mu\text{m}$ 以下で、その底面外側部の平坦度は5 $\mu\text{m}$ 以下に平坦化されており、

30

前記磁気センサ素子グリッド基板は、基板上に配置された磁気センサ素子グリッドと磁気センサ素子グリッド回路とそれらを保護する被覆部と外部接続端子とからなり、

前記被覆部は、上面は平坦度5 $\mu\text{m}$ 以下に平坦化され、

前記シャーレは前記磁気センサ素子グリッド基板の前記被覆部の上面に固定され、前記磁気センサ素子グリッド基板は細胞観察架台に観察中に移動しないように固定されており、

前記信号処理回路は、前記磁気センサ素子グリッドにより細胞内に流れる電流素片から生じる微小磁界に対応するグリッド電圧を検知して、前記グリッド電圧をグリッド磁界の値に変換し、

40

前記表示装置は、前記磁気センサ素子グリッドにて前記基板上のX軸とY軸に沿った碁盤目状の交点の位置に磁気センサ素子を配置して、交点の位置の磁界を測定し、

前記グリッド磁界の絶対値を等高線図として表示することを特徴とする磁気顕微鏡。

【0040】

また、磁気顕微鏡の磁気センサ素子は、

H<sub>z</sub>磁界、H<sub>x</sub>磁界、H<sub>y</sub>磁界のいずれか1磁界を測定する1軸素子からなることを特徴とする。

【0041】

また、磁気顕微鏡の磁気センサ素子は、

H<sub>x</sub>磁界およびH<sub>y</sub>磁界を測定する2軸素子からなることを特徴とする。

50



## 【0042】

また、磁気顕微鏡の磁気センサ素子は、  
H<sub>x</sub>磁界、H<sub>y</sub>磁界およびH<sub>z</sub>磁界を測定する3軸素子からなることを特徴とする。

## 【0043】

また、磁気顕微鏡は、  
グリッド磁界の値から細胞内に流れる前記電流素片を計算するプログラムおよびその値を  
イメージ画像としてスクリーンに表示する装置とからなることを特徴とする。

## 【0044】

また、磁気顕微鏡は、  
観察前に、センサグリッド位置(i, j)における磁界を計測して初期の磁界測定値 $mH_{ij}(\quad)(b)$ を求め、その値をX軸とY軸平面上のグリッドサイズに対応した磁界分  
布として表示する。

10

## 【0045】

次にシャーレに細胞を設置してから、センサグリッド位置(i, j)における磁界を計測  
して磁界測定値 $mH_{ij}(\quad)(a)$ を求め、そこから $mH_{ij}(\quad)(b)$ を差し引い  
て、測定値 $mH_{ij}(\quad)$ とする。すなわち、測定値 $mH_{ij}(\quad) = mH_{ij}(\quad)(a) - mH_{ij}(\quad)(b)$ となる。

## 【0046】

この測定値 $mH_{ij}(\quad)$ を細胞集合体内の電流素片から発する磁界と考え、磁気センサ  
素子グリッドの(i, j)番の位置にある磁気センサで測定してその測定値を $mH_{ij}(\quad)$   
とし、 $mH_{ij}$ 絶対値の等高線図を作成し、  
 $mH_{ij}(\quad)$ の絶対値のピークから電流素片I<sub>d s</sub>の位置P(x, y, z)を仮定し、前  
記 $mH_{ij}(\quad)$ の絶対値のピークの山の広がりから電流素片I<sub>d s</sub>の長さd<sub>s</sub>を仮定し  
て、前記細胞集合体内にn個の電流素片I<sub>d s</sub>が存在しているとの計算モデルを作成する  
。

20

## 【0047】

次に、k番目の電流素片I<sub>k d s<sub>k</sub></sub>の位置P<sub>k</sub>(x<sub>k</sub>, y<sub>k</sub>, z<sub>k</sub>)とし、磁界の測定位置  
G<sub>ij</sub>(x<sub>ij</sub>, y<sub>ij</sub>, 0)として電流素片位置P<sub>k</sub>(x<sub>k</sub>, y<sub>k</sub>, z<sub>k</sub>)と磁界測定位置  
G<sub>ij</sub>(x<sub>ij</sub>, y<sub>ij</sub>, 0)との距離R<sub>ijk</sub>とすると、  
k番目の電流素片I<sub>k d s<sub>k</sub></sub>が作る磁界は、 $H_{ijk}(\quad) = 1/4 \cdot R_{ijk}^{-3} \times I_{k d s_k}(\quad) \times R_{ijk}(\quad)$ の方程式から求めることができるので、1からn個の磁界  
を加算して、前記磁気センサ素子グリッドの測定位置G<sub>ij</sub>(i, j)の位置に作る磁界  
の理論値を $tH_{ij}(\quad) = H_{ijk}(\quad)$ とし、  
両者の誤差を $e_{ij}(\quad) = mH_{ij}(\quad) - tH_{ij}(\quad)$ とし、  
誤差関数 $E = (e_{ij})^2$ を作成する。

30

## 【0048】

I<sub>k</sub>( $\quad$ )の向きについては、XY軸平面に対して、傾斜角を $\theta_k$ として、X軸に対する  
角度を $\phi_k$ とし、  
この誤差関数からI<sub>k</sub>とd<sub>s<sub>k</sub></sub>と $\theta_k$ と $\phi_k$ およびX<sub>k</sub>、Y<sub>k</sub>、Z<sub>k</sub>に関する7n個の連  
立方程式を求め、その式から未知数を求め、  
細胞集合体に流れるn個の電流素片を計算し、その結果を用いて電流素片の分布図を作成  
し、スクリーンに表示することを特徴とする。

40

## 【0049】

また、磁気顕微鏡は、  
最初に顕微鏡の測定環境の磁界を磁気センサ素子グリッドで測定し、その磁界平均および  
磁界分布を求め、磁気顕微鏡で細胞をリアルタイムで測定した時の値を補正する方法、ま  
たは、二組の磁気センサ素子グリッドを組み合わせて差動型素子として機能させる方法に  
よって、外部の磁界環境を取り除くことを特徴とする。

## 【0050】

本発明の第2実施形態は次のとおりである。

50

磁気顕微鏡は、

細胞観察用シャーレ基板面の下方には磁気センサ素子グリッドを設置し、上方には落射型光学顕微鏡、または/およびCCDカメラを設置して、細胞の形状と動きを光学的に観察すると同時に磁氣的に観察することができることを特徴とする。

【0051】

また、磁気顕微鏡は、

細胞観察用シャーレ基板面の下方には磁気センサ素子グリッド基板の材質を透明素材とし磁気センサ素子グリッドを設置し、上方には透過型光学顕微鏡、または/およびCCDカメラを設置して、細胞の形状と動きを光学的に観察すると同時に磁氣的に観察することができることを特徴とする。

【0052】

以下、発明の実施形態について、図1～図10を用いて詳細に説明する。

< 磁気顕微鏡 >

図1に磁気顕微鏡を構成する磁気センサ素子グリッド基板と被検体の細胞（細胞集合体）およびシャーレとの位置関係を示す。なお、磁気顕微鏡は磁気センサ素子で検出した磁界の信号を変換する信号処理回路および表示装置等からなる。

磁気センサ素子グリッド基板10には、磁気センサ素子101がグリッド基板（基板）に多数個配置されて磁気センサ素子グリッドを形成している。

シャーレ（細胞観察用）11に細胞（細胞集合体）12を載置し、図1に示すように磁気センサ素子グリッド基板10の上にシャーレ11を設置する。

そして、シャーレ11の底面111および磁気センサ素子グリッド基板10の被覆部の上面102はいずれも平坦度5 $\mu$ m以下の平坦面からなり、両平坦面が密接に接触している。

両者の位置関係は、観察する細胞（細胞集合体）のサイズ・体積と磁気センサ素子グリッドの検出能、さらに光学顕微鏡との組み合わせを考慮して、最適な組み合わせを任意に選択できる。

【0053】

< 磁気センサ >

磁気センサとして、GSRセンサを採用する。そのGSR素子の基本構造を図2に示し、磁気センサ素子グリッドの構造を図3～図5に示して説明する。

磁性ワイヤ22の直径は、1 $\mu$ m～10 $\mu$ mとする。検出コイル23のコイルピッチは0.1 $\mu$ m～3 $\mu$ mとし、コイル幅は3 $\mu$ m～30 $\mu$ mとする。磁性ワイヤの本数は、必要に応じて1本～8本とする。

なお、磁気顕微鏡を構成する磁気センサとして、サイズおよび性能の点から磁気顕微鏡として特性を発揮できる場合には、GSRセンサに限定されるものではない。

【0054】

基板（グリッド基板）上31に形成・配置されている磁気センサ素子グリッド3の単位素子（磁気センサ素子）32のサイズは、10 $\mu$ m～1mmである。

単位素子32のサイズが10 $\mu$ mの場合は、コイルピッチは0.1 $\mu$ mとし、コイル幅は3 $\mu$ mとし、磁性ワイヤ本数は2本としてコイル巻き数を150回とすることが好ましい。

一方、単位素子32のサイズが1mmの場合には、コイルピッチは3 $\mu$ mとし、コイル幅は30 $\mu$ mとし、磁性ワイヤ本数は1本～8本までとし、コイル巻き数を2400回とすることが好ましい。

【0055】

ここで、GSRセンサについては、図2に示すように、基板21上に導電性を有する磁界検出用磁性ワイヤ22とそれに巻回した周回コイルで形成した検出用コイル23とワイヤ通電用の電極24の2個とコイル電圧検出用電極28の2個の電極を接続する配線26、29で構成されるGSR素子2、およびその磁性ワイヤにGHzの周波数を持つパルス電流を流す手段とパルス電流を流した時に生じるコイル電圧を検知し、コイル電圧を外部磁

10

20

30

40

50

界 H に変換する電子回路とからなる超高感度マイクロ磁気センサである。

【 0 0 5 6 】

< 磁気センサ素子グリッド ( グリッド ) >

磁気センサ素子グリッド 3 は、図 3 に示すように、単位素子 ( 磁気センサ素子 ) 3 2 をグリッド基板 3 1 に多数個配置したものである。

磁気センサ素子グリッド 3 のサイズは、5 mm 角 ~ 2 0 mm 角、または直径 5 mm ~ 直径 2 0 mm とする。その単位素子 3 2 のサイズは、1 0 μ m ~ 1 mm である。単位素子 3 2 の数は、最小の 5 × 5 の 2 5 画素 ~ 最大の 2 0 0 0 × 2 0 0 0 の 4 0 0 万画素である。

【 0 0 5 7 】

単位素子 3 2 は、図 4 に示すように、1 軸素子 ( 図 4 A ) のタイプ、2 軸素子 ( 図 4 B ) のタイプ、3 軸素子 ( 図 4 C ) の 3 つのタイプがある。

そして、3 つのタイプについて、図 3 の A 1 - A 2 線における断面図を図 5 ( 5 A 、 5 B 、 5 C ) に示す。断面図は、シャーレの上に設置した磁気センサ素子グリッドの断面を示している。

【 0 0 5 8 】

まず、1 軸素子 ( 図 4 A ) のタイプは、グリッド基板 3 1 に G S R センサ素子 3 2 1 を X 軸と Y 軸の交点 3 2 1 o を中心にして対称に、

( a - 1 ) Z 軸素子 3 2 1 z を Z 軸方向に各 1 個配置した 1 軸素子のタイプ、  
 ( a - 2 ) X 軸素子 3 2 1 x を X 軸方向に各 1 個配置した 1 軸素子のタイプ、  
 ( a - 3 ) Y 軸素子 3 2 1 y を Y 軸方向に各 1 個配置した 1 軸素子のタイプ  
 がある。

【 0 0 5 9 】

これらの断面図 ( 図 5 A ) は、細胞液 ( 細胞体 ) 1 2 および細胞液 1 2 を載せたシャーレ 4 0 とともに示している。以下、同様である。

( a - 1 ) 1 軸素子グリッド - z 軸タイプ ( 4 ( 4 1 ) ) にて、G S R 素子 4 1 1 と A S I C 4 1 2 、電極 4 1 3 およびグリッド配線 4 1 4 を保護する被覆部 4 1 5 からなり、シャーレ 4 0 の下に載置されている。

( a - 2 ) 1 軸素子グリッド - x 軸タイプ ( 4 ( 4 2 ) ) は、G S R 素子 4 2 1 と A S I C 4 2 2 、電極 4 2 3 およびグリッド配線 4 2 4 を保護する被覆部 4 2 5 からなり、シャーレ 4 0 の下に載置されている。

( a - 3 ) 1 軸素子グリッド - y 軸タイプ ( 4 ( 4 3 ) ) は、G S R 素子 4 3 1 と A S I C 4 3 2 、電極 4 3 3 およびグリッド配線 4 3 4 を保護する被覆部 4 3 5 からなり、シャーレ 4 0 の下に載置されている。

【 0 0 6 0 】

次に、2 軸素子 ( 図 4 B ) のタイプは、グリッド基板 3 1 に G S R センサ素子 3 2 1 を X 軸と Y 軸の交点 3 2 1 o に沿って、

( b ) 横方向に 2 個の X 軸素子 3 2 1 x と縦方向に 2 個の Y 軸素子 3 2 1 y を原点 3 2 1 o 中心にして対象に配置した 2 軸素子のタイプ  
 がある。

【 0 0 6 1 】

この 2 軸素子のタイプ ( 4 ( 4 4 ) ) の断面図は、図 5 B に示すように、G S R 素子 4 4 1 と A S I C 4 4 2 、電極 4 4 3 およびグリッド配線 4 4 4 を保護する被覆部 4 4 5 からなり、シャーレ 4 0 の下に載置されている。

【 0 0 6 2 】

最後に、3 軸素子 ( 図 4 C ) のタイプは、グリッド基板 3 1 に磁界ベクトルセンサを X 軸と Y 軸の交点 3 2 1 o に沿って配置した 3 軸タイプである。

この 3 軸素子タイプは、四角錐台、八角錐台または変則八面錐台からなる台座 3 3 0 の傾斜面 3 3 1 に 4 個の G S R 素子または o n - A S I C タイプの G S R センサを傾斜方向と G S R 素子の磁性ワイヤ 3 2 1 w が一致するように 4 回対称で鏡像対称に配置したものである。

10

20

30

40

50

2個のX軸素子321xと2個のY軸素子321yからX軸方向とY軸方向の磁界を測定するとともにZ軸方向の磁界を計算により求めるものである。

なお、on-ASICタイプのGSRセンサは、発明者らが発明したもので特許公報（特許第7062216号公報）にて開示されている。詳細な内容は、当該特許公報の記載を参照する。また、この磁界ベクトルセンサは、発明者らが発明したもので特許公報（特許第7215702号公報）にて開示されている。詳細な内容は、当該特許公報の記載を参照する。

#### 【0063】

この3軸素子のタイプ(4(45))の断面図は、図5Cに示すように、GSR素子451とASIC452、電極453およびグリッド配線454を保護する被覆部455からなり、シャーレ40の下に設置されている。

なお、Z軸方向の磁界は計算により求めるもので素子451zは計算上の素子である。

#### 【0064】

<磁気センサ素子グリッドと細胞との位置関係>

磁気センサ素子グリッド(磁気センサ素子グリッド基板)10の位置は、シャーレ11の厚みは300μm以下とし、磁気センサ素子グリッド10の上面の被覆部を平坦度5μm以下に平坦にして、この平坦面をシャーレの平坦度5μm以下に平坦化された底面部裏側に直接押し当てて、細胞から磁気センサ素子101の測定部までの距離を300μm以下とすることが好ましい。細胞が発する磁界は距離の二乗に反比例するので、この距離を極力小さくすることが求められるわけである。

両者の平坦面は平坦度μm以下に平坦化されているので相互に密接に接触することによりシャーレ内の細胞と磁気センサ素子との距離が均一となる。

#### 【0065】

<単位素子の交点における磁界成分の測定>

(A) 1軸素子における磁界成分の測定

(a-1) 交点321oを中心に4個の単位素子321zで測定したHz1、Hz2、Hz3、Hz4の4個のデータから、交点の磁界成分であるHzは、 $H_z = (H_z1 + H_z2 + H_z3 + H_z4) / 4$ から求めることができる。

(a-2) 交点321oを中心に4個の単位素子321xで測定したHx1、Hx2、Hx3、Hx4の4個のデータから、交点の磁界成分であるHxは、 $H_x = (H_x1 + H_x2 + H_x3 + H_x4) / 4$ から求めることができる。

(a-3) 交点321oを中心に4個の単位素子321yで測定したHy1、Hy2、Hy3、Hy4の4個のデータから、交点の磁界成分であるHyは、 $H_y = (H_y1 + H_y2 + H_y3 + H_y4) / 4$ から求めることができる。

#### 【0066】

(B) 2軸素子における磁界成分の測定

(b) 交点321oを中心にX軸向きの2個の単位素子321xとY軸向きの2個の単位素子321yとで測定したHx1、Hx2、Hy1、Hy2の4個のデータから、交点の磁界成分であるHxとHyは、 $H_x = (H_x1 + H_x2) / 2$ 、 $H_y = (H_y1 + H_y2) / 2$ から求めることができる。

#### 【0067】

(C) 3軸素子における磁界成分の測定

(c) 磁界ベクトルセンサにおいて、台座の傾斜角度をθとし、交点321oを中心にX軸向きの2個の単位素子321xとY軸向きの2個の単位素子321yとで測定したHx1、Hx2、Hy1、Hy2の4個のデータから、交点321oの磁界成分であるHxとHyは、 $H_x = (1 / 2 \cos \theta) (H_x1 - H_x2)$ 、 $H_y = (1 / 2 \sin \theta) (H_y1 - H_y2)$ から求めることができる。そして、Z軸方向のHzは、 $H_z = (1 / 4 \sin \theta) (H_x1 + H_x2 + H_y1 + H_y2)$ からもとめることができる。

#### 【0068】

なお、外部磁界の影響を取り除くためには、測定前にまず環境磁界を測定し、シャーレに

細胞を載せて観察する際に、測定値から環境磁界を差し引くことによって可能となる。あるいは二組の磁気センサ素子グリッドを差動的に配置して、両者の測定値の差分を求めることによって可能になる。

【0069】

磁気センサ素子グリッドは、単位素子32の交点の位置をX軸方向の*i*番とY軸方向の*j*番の位置を $P_{ij}$ とし表し、 $P_{ij}$ における測定値を $H_{ij}$ として、 $H_{ij}$ を電流素片分布計算プログラムに転送する電子回路を兼ね備えている。

なお、単位素子32を構成する各素子(X軸方向、Y軸方向およびZ軸方向の素子)のグリッド基板上的位置を(*i*, *j*)番として、各素子の測定値を直接グリッド磁界測定値として、磁界分布および電流素片分布を計算してもよい。

【0070】

<電流素片分布を計算するプログラム>

電流素片分布を計算するプログラムは、細胞集合体内の電流素片から発する磁界を磁気センサ素子グリッドの(*i*, *j*)番の位置にある磁気センサで測定し、その測定値を $mH_{ij}$ とする。

【0071】

実際には環境磁界の影響を受けるので、観察前に、磁気センサ素子グリッド位置(*i*, *j*)における磁界を計測して初期の磁界測定値 $mH_{ij}$ ( ) (b)を求め、その値をX軸とY軸平面上のグリッドサイズに対応した磁界分布として表示する。

【0072】

次にシャーレに細胞を設置してから、磁気センサ素子グリッド位置(*i*, *j*)における磁界を計測して磁界測定値 $mH_{ij}$ ( ) (a)を求め、そこから $mH_{ij}$ ( ) (b)を差し引いて、測定値とする。

すなわち、 $mH_{ij}$ ( ) =  $mH_{ij}$ ( ) (a) -  $mH_{ij}$ ( ) (b)となる。

この値を細胞集合体内の電流素片から発する磁界と考え、磁気センサ素子グリッドの(*i*, *j*)番の位置にある磁気センサで測定してその測定値を $mH_{ij}$ ( )とする。

【0073】

$mH_{ij}$ 絶対値の等高線図を作成し、*n*個のピーク位置を特定し、各 $mH_{ij}$ 絶対値のピークから電流素片の位置 $P_k(x_k, y_k, z_k)$ とピークの山の広がりから電流素片 $d s_k$ ( )の長さを仮定して、細胞集合体内の位置 $P_k(x_k, y_k, z_k)$ に電流素片 $I_k d s_k$ ( )が存在していると仮定する。ピークの箇所が*n*個(1個以上の複数個)ある場合、*n*個の電流素片があると仮定して計算のモデルを作成する。

【0074】

次に、*k*番目の電流素片 $I_k d s_k$ の位置 $P_k(x_k, y_k, z_k)$ とし、磁界の測定位置 $G_{ij}(x_{ij}, y_{ij}, 0)$ として電流素片位置 $P_k(x_k, y_k, z_k)$ と測定位置 $G_{ij}(x_{ij}, y_{ij}, 0)$ との距離 $R_{ijk}$ とすると、

*k*番目の電流素片 $I_k d s_k$ が作る磁界は、 $H_{ijk}$ ( ) =  $1 / 4 \pi R_{ijk}^3 \times I_k d s_k$ ( )  $\times R_{ijk}$ ( )の方程式から求めることができるので、*n*個の電流素片が作る磁界を加算して、磁気センサ素子グリッドの(*i*, *j*)番の位置に作る理論値 $tH_{ij}$ ( ) =  $\sum tH_{ijk}$ ( )とする。

【0075】

両者の誤差を $e_{ij} = mH_{ij}$ ( ) -  $tH_{ij}$ ( )とし、誤差関数 $E = \sum (e_{ij})^2$ を作成し、

$I_k$ の向きについては、XY軸平面に対して、傾斜角を $\theta_k$ として、X軸に対する角度を $\phi_k$ とし、この誤差関数からガウスニュートン法で誤差関数を偏微分して、7*n*個の連立方程式を導出し、 $I_k$ と $d s_k$ と $\theta_k$ と $\phi_k$ および $x_k$ 、 $y_k$ 、 $z_k$ とからなる7*n*個の連立方程式を求め、その式から7*n*個の未知数を求め、細胞集合体に流れる多数個の電流素片を計算し、その結果を用いて電流素片の分布図を作成し、磁界分布図としてスクリーンに表示する。

【0076】

10

20

30

40

50

プログラムの手順は次の通りである（図7）。なお、ベクトル表示は、（ ）とする。

第1ステップ（101）；

観察前に、センサグリッド位置（ $i, j$ ）における磁界を計測して初期の磁界測定値  $mH_{ij}$ （ ）（b）を求める。

ただし、センサグリッド座標系  $OXYZ$  として、各素子の位置を特定しておくものとする。

【0077】

第2ステップ（102）；

シャーレに細胞を設置してから、センサグリッド位置（ $i, j$ ）における磁界を計測して磁界測定値  $mH_{ij}$ （ ）（a）を求め、そこから  $mH_{ij}$ （ ）（b）を差し引いて、測定値  $mH_{ij}$ （ ）とし、磁界分布を計算し、 $mH_{ij}$ （ ）絶対値分布に  $k$  個のピークがある場合、そのピーク位置  $P_k(X_k, Y_k, Z_k)$  に電流素片  $I_k d s_k$  が存在すると仮定する。 $d s_k$  の長さはピーク位置を中心に、その山の広がりから定めるものとする。

10

【0078】

図6に磁界分布図の例を示す。

細胞集合体5は、細胞51～細胞55の5個（ $n=5$ ）からなり、それぞれの細胞の等高線511～等高線551が図示され、等高線図を示している。それぞれの等高線図のピークに電流素片  $I_1 d s_1$ ～電流素片  $I_5 d s_5$  があり、その位置が位置  $P_1$ ～位置  $P_5$  となる。

20

それを電流素片分布計算プログラムに転送する。

【0079】

第3ステップ（103）；

ピーク位置  $P_k$  に電流素片  $I_k d s_k$  が存在すると仮定して  $P_k$  の位置にある  $n$  個の電流素片  $I d s$  が作る各磁気センサ素子グリッドの位置  $G_{ij}(X_{ij}, Y_{ij})$  における理論的磁界強度は、 $k$  番目の電流素片が発する磁界は、計算式  $tH_{ijk}(\ ) = 1/4 R_{ijk}^3 \times I_k d s_k(\ ) \times R_{ijk}(\ )$  で求めることができる。電流素片は1から  $n$  個あるので、 $G_{ij}(X_{ij}, Y_{ij})$  の位置における理論的磁界強度は、 $tH_{ij} = 1/4 R_{ijk}^3 \times I_k d s_k \times R_{ijk}$  と  $n$  個の和で求める。

30

【0080】

第4ステップ（104）；

$k$  番目の電流素片の位置  $I_k d s_k$  と磁界の測定位置  $G_{ij}(X_{ij}, Y_{ij})$  までの距離ベクトル  $R_{ijk}(\ )$  と、電流素片の  $Z$  軸との傾きを  $\theta_k$  とし、 $X$  軸との傾きを  $\phi_k$  とすると、

$tH_{ij}$  は、電流強度  $I_k$  と電流素片の長さ  $d s_k$  と位置  $X_{ijk}$ 、 $Y_{ijk}$ 、 $Z_{ijk}$  と方位角  $\theta_k$ 、 $\phi_k$  の関数となる。

【0081】

第5ステップ（105）；

測定誤差を計算する。

$$e_{ij}(\ ) = mH_{ij}(\ ) - tH_{ij}(\ )$$

40

【0082】

第6ステップ（106）；

誤差の平方和を求める。

$$E = e_{ij}^2$$

【0083】

第7ステップ（107）；

ガウスニュートン法で 誤差平方和が最小となる電流強度  $I_k$  と電流素片の長さ  $d s_k$  と  $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$  と方位角  $\theta_k$ 、 $\phi_k$  を算出する。

【0084】

第8ステップ（108）；

50

各電流素片の大きさ  $I_k d s_k$  と位置  $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$  の値から、電流素片分布を計算し、それを PC 画面にイメージ画像として表示する。または各電流素片の電流の強度  $I_k$  と位置  $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$  の値から、電流分布を計算し、それを PC 画面にイメージ画像として表示する

【0085】

電流素片の中心位置は、画素の大きさの  $1/10$  以下の位置精度を持ち、電流の強度は、 $\pm 10\%$  以下の精度で計算することができる。

【0086】

また、各電流素片の分布と電流保存の法則によって制約を受けており、電流保存の法則と矛盾しないか、確認する。

【0087】

本発明の第2実施形態は、図8および図9に示すように、シャーレ62の基板面の下方に磁気センサ素子グリッド61を設置し、上方には光学顕微鏡64(64a、64b)が設置されていて、細胞63の動きを光学的に観察し、同時に磁氣的に観察することができる。

【0088】

光学顕微鏡64で観察し、撮影した細胞63の形状図の上に、磁気顕微鏡で測定した電流素片分布を重ねて、その画像をスクリーンに表示する。

これによりリアルタイムで細胞の機械的運動と形状変化の動き(図10(a))と各細胞の活性化度71(図10(b))の両方を容易に観察できるようにすることができる。

【実施例】

【0089】

[実施例1]

本発明の第1実施形態において、各設計要素を、以下の通りとしたものである。

磁気センサとして、GSRセンサを採用する。GSR素子の構造を図2に示す。

磁性ワイヤ22の長さを  $0.95\text{ mm}$  とし、ワイヤ径は  $10\ \mu\text{m}$  とし、コイルピッチは  $3\ \mu\text{m}$  とし、コイルの幅は  $30\ \mu\text{m}$  とし、および磁性ワイヤの本数は、4本とした。コイル巻き数を1,200回とした。センサグリッドの単位素子のサイズは、 $1\text{ mm}$  とした。これにより、単位素子の磁気検出力は  $1\ \text{pT}$  であった。

【0090】

ここで、用いたGSRセンサについては、図2に示すように、基板上に導電性を有する磁界検出用磁性ワイヤとそれに巻回した周回コイルで形成した検出用コイルとワイヤ通電用の電極2個とコイル電圧検出用電極2個の電極を接続する配線で構成されるGSR素子、およびその磁性ワイヤに  $1.2\ \text{GHz}$  の周波数を持つパルス電流を流す手段とパルス電流を流した時に生じるコイル電圧を検知し、コイル電圧を外部磁界  $H$  に変換する電子回路とからなる超高感度マイクロ磁気センサである。

【0091】

磁気センサ素子グリッドは、単位素子を図3のように多数個配置したものである。単位素子は2軸素子からなり、図4B(b)に示すように、グリッド基板にGSRセンサ素子をX軸とY軸に沿って各2個配置し、X軸素子とY軸素子の交点の磁界( $H_x$ ,  $H_y$ )が計測できる構造としたものである。グリッドセンサのサイズは、 $20\text{ mm}$  角とした。グリッドの素子の数は、361画素とした。

グリッド基板は、平坦な絶縁素材や絶縁被膜コーティングしたASIC基板を用いた。グリッド基板は、最上面の素子の配置面と信号処理をする電子回路面と機械的強度を保證する強度素材から成り立っている。電子回路と強度部材からなるASIC基板面にGSR素子を配置して、両者をベアホールで接続した。さらに、グリッド基板は被覆部で保護されており、被覆部の上面は平坦度  $5\ \mu\text{m}$  以下に平坦化されている。

【0092】

シャーレは、底部の厚みを  $160\ \mu\text{m}$  とし、底部外側は平坦度  $3\ \mu\text{m}$  に平坦化して、そこに磁気センサ素子グリッド基板の平坦度  $3\ \mu\text{m}$  の被覆部の平坦面をシャーレの裏側(底部

10

20

30

40

50

外側)に直接押し当てて、細胞から細胞液面までの磁気センサ素子の測定部までの距離を  $240\ \mu\text{m}$ とした。

#### 【0093】

単位素子で測定した  $H_{x1}$ ,  $H_{x2}$ ,  $H_{y1}$ ,  $H_{y2}$  の4個のデータから、交点の磁界成分である  $H_x$  と  $H_y$  は、 $H_x = (H_{x1} + H_{x2}) / 2$ 、 $H_y = (H_{y1} + H_{y2}) / 2$  から求めた。測定前にまず環境磁界を測定し、シャーレに細胞を載せて観察する際に、測定値から環境磁界を差し引いて、外部磁界の影響を受けないようにした。

#### 【0094】

磁気センサ素子グリッドは、センサ素子の交点の位置を X 軸方向の  $i$  番と Y 軸方向の  $j$  番の位置を  $P_{ij}$  と表し、 $P_{ij}$  における測定値を  $H_{ij}(\ )$  とし、磁界測定分布を求めた。この測定値  $H_{ij}(\ )$  は電流素片分布計算プログラムに電子回路を経由して転送された。

さらに、グリッド間の磁界については、補間法で近似曲線を作成し、グリッド間隔の  $1/20$  程度の磁界空間分布能を得ることができた。

#### 【0095】

電流素片分布を計算するプログラムは、細胞集合体内の電流素片から発する磁界を磁気センサグリッドの  $(i, j)$  番の位置にある磁気センサで測定し、その測定値を  $mH_{ij}(\ )$  とし、 $k$  番目の電流素片が作る理論値  $tH_{ij}(\ )$  は、各電流素片が作る磁界は  $tH_{ijk}(\ ) = 1/4 \cdot R_{ijk}^3 \times I_k d s_k(\ ) \times R_{ijk}(\ )$  となるので、 $n$  個の電流素片が作る磁界を加算して求めた。両者の誤差を  $e_{ij}(\ ) = mH_{ij}(\ ) - tH_{ij}(\ )$  とし、誤差関数  $E = (e_{ij})^2$  と定義する。I の向きについては、XY 軸平面に対して、傾斜角を  $\theta$  とし、X 軸に対する角度を  $\phi$  と定義した。

#### 【0096】

6 個の電流素片がある場合 (つまり  $n = 6$  個)、ガウスニュートン法で誤差関数を偏微分すると、42 個の連立方程式を導出し、それから求めることができる。

#### 【0097】

プログラムの手順は以下の通り (図7) である。なお、ベクトル表示は、 $(\ )$  とする。第1ステップ (101) は、観察前に、センサグリッド位置  $(i, j)$  における磁界を計測して初期の磁界測定値  $mH_{ij}(\ )$  (b) を求める。

ただし、センサグリッド座標系 OXYZ とし、各素子の位置を特定しておくものとする。

#### 【0098】

第2ステップ (102) は、シャーレに細胞を設置してから、磁気センサ素子グリッド位置  $(i, j)$  における磁界を計測して磁界測定値  $mH_{ij}(\ )$  (a) を求め、そこから  $mH_{ij}(\ )$  (b) を差し引いて、磁界測定値  $mH_{ij}(\ )$  とし、磁界分布を計算し、 $mH_{ij}(\ )$  絶対値分布に  $n$  個のピークがある場合、その  $k$  番目のピーク位置  $P_k(x_k, y_k, z_k)$  に電流素片  $I_k d s_k$  が存在すると仮定する。 $d s$  の長さはピーク位置を中心に、その山の広がりから定めるものとする。それを電流素片分布計算プログラムに転送する。

#### 【0099】

第3ステップ (103) は、ピーク位置  $P_k$  に電流素片  $I d s_k$  が存在すると仮定して  $P_k$  の位置にある  $n$  個 ( $k$  は 1 から  $n$  の値を取る) の電流素片  $I d s$  が作る各磁気センサ素子グリッドの位置  $P(i, j)$  における理論的磁界強度は、電流素片が発する磁界は、計算式  $tH_{ij} = 1/4 \cdot R_{ij}^3 \times I d s \times R_{ij}$  で求めることができる。電流素片は  $n$  個あるので、 $P(i, j)$  の位置における理論的磁界強度は、 $tH_{ij} = 1/4 \cdot R_{ijk}^3 \times I_k d s_k \times R_{ijk}$  と  $n$  個の和で求める。

#### 【0100】

第4ステップ (104) は、 $k$  番目の電流素片位置  $I_k d s_k$  と磁界の測定位置  $G_k$  までの距離ベクトル  $R_{ijk}(\ )$  と、電流素片の Z 軸との傾きを  $\alpha_k$  とし、X 軸との傾きを  $\beta_k$  とすると、理論的磁界強度  $tH_{ij}$  は、電流強度  $I_k$  と電流素片の長さ  $d s_k$  と位置

10

20

30

40

50



$X_{ijk}$ 、 $Y_{ijk}$ 、 $Z_{ijk}$ と方位角  $\theta_k$ 、 $\phi_k$ の関数となる。

【0101】

第5ステップ(105)は、測定誤差を計算する。

$$e_{ij}(\quad) = mH_{ij}(\quad) - tH_{ij}(\quad)$$

【0102】

第6ステップ(106)は、誤差の平方和を求める。

$$E = \sum e_{ij}^2$$

【0103】

第7ステップ(107)は、ガウスニュートン法で 誤差平方和が最小となる  $I_k$ と  $d s_k$ と  $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$ と方位角  $\theta_k$ 、 $\phi_k$ を算出する。

【0104】

第8ステップ(108)は、各電流素片の大きさ  $I_k$ と  $d s_k$ と位置  $X_k$ 、 $Y_k$ 、 $Z_k$ と方位角  $\theta_k$ 、 $\phi_k$ の値から、電流素片ベクトル分布または電流素片の電流強度を計算し、それをPC画面にイメージ画像として表示する。

電流素片の中心位置と強度・方位は、画素の大きさの1/10以下の位置精度を持ち、電流の強度はと方位は、 $\pm 10\%$ 以下の精度で計算することができる。

また、各電流素片の分布と電流保存の法則とが矛盾していなかった。

【0105】

センサグリッドのサイズは、20mm角とした。グリッドの素子の数は、400画素とした。

磁気顕微鏡の磁界空間分解能と電流素片の中心位置の位置精度は50 $\mu$ mで、これにより20倍の光学顕微鏡の精度に対応することができた。電流の強度と方位は、 $\pm 10\%$ 以下の精度になると電流素片の計算プログラムを使ったシミュレーション計算の結果、見積もることができた。

【0106】

[実施例2]

実施例1において、GSRセンサとして、磁性ワイヤ長さを10 $\mu$ mとし、ワイヤ径は8 $\mu$ mとし、コイルピッチは0.1 $\mu$ mとし、コイルの幅は20 $\mu$ mとし、およびワイヤの本数は、2本とした。センサグリッドの単位素子のサイズは、0.10mmとした。コイル巻き数を200回とした。これにより、単位素子の磁気検出力は100pTであった。

【0107】

センサグリッドのサイズは、10mm角とした。グリッドの素子の数は、2500画素とした。

【0108】

磁気顕微鏡の磁界空間分解能と電流素片の中心位置の位置精度は10 $\mu$ mで、これにより100倍の光学顕微鏡の精度に対応することができた。電流の強度と方位は、 $\pm 10\%$ 以下の精度となると理論的に予測された。

【0109】

[実施例3]

実施例1において、GSRセンサとして、磁性ワイヤ長さを10 $\mu$ mとし、ワイヤ径は2 $\mu$ mとし、コイルピッチは0.2 $\mu$ mとし、コイルの幅は4.5 $\mu$ mとし、およびワイヤの本数は、2本とした。センサグリッドの単位素子のサイズは、0.011mmとした。コイル巻き数を100回とした。これにより、単位素子の磁気検出力は500pTであった。

【0110】

センサグリッドのサイズは、5mm角とした。グリッドの素子の数は、25万画素とした。

【0111】

磁気顕微鏡の磁界空間分解能と電流素片の中心位置の位置精度は1 $\mu$ mで、これにより1000倍の光学顕微鏡の精度に対応することができた。電流の強度と方位は、 $\pm 5$

10

20

30

40

50

%以下の精度となると電流素片の計算プログラムを使ったシミュレーション計算の結果、見積もることができた。

【0112】

[実施例4]

実施例1において、GSRセンサとして、磁性ワイヤ長さを2mmとし、ワイヤ径は10μmとし、コイルピッチは3μmとし、コイルの幅は40μmとし、およびワイヤの本数は、4本とした。センサグリッドの単位素子のサイズは、0.011mmとした。コイル巻き数を2000回とした。これにより、単位素子の磁気検出力は5pTであった。

【0113】

センサグリッドのサイズは、50mm角とした。グリッドの素子の数は、625画素とした。

10

【0114】

磁気顕微鏡の磁界空間分解能と電流素片の中心位置の位置精度は50μmで、これにより10倍の光学顕微鏡の精度に対応することができた。電流の強度と方位は、±10%以下の精度となると電流素片の計算プログラムを使ったシミュレーション計算の結果、見積もることができた。

【0115】

[実施例5]

実施例1～実施例4の磁気顕微鏡に落射型光学顕微鏡を組み合わせたものである。

図8に示すように、磁気センサ素子グリッド基板61をシャーレ62の基板面の下方に設置し、上方には落射型光学顕微鏡64aを設置したことにより、細胞63の動きを光学的に観察してCCDカメラ65で撮影し、同時に磁氣的に観察することができた。光学顕微鏡で観察した細胞の形状図の上に、磁気顕微鏡で測定した電流素片分布を重ねて、その画像をスクリーンに表示した。これによりリアルタイムで細胞の機械的運動と形状変化の動きと各細胞の活性化度の両方を容易に観察できた(図10)。

20

【0116】

[実施例6]

実施例1～実施例4の磁気顕微鏡に透過型光学顕微鏡を組み合わせたものである。

図9に示すように、磁気センサ素子グリッド基板61をシャーレ62の基板面の下方に設置し、上方には透過型光学顕微鏡64bを設置した。磁気センサグリッド基板には透明素材であるガラスを用いて株からの光の透過を可能にした。細胞52の動きを光学的に観察してCCDカメラ65で撮影し、同時に磁氣的に観察することができた。光学顕微鏡で観察した細胞の形状図の上に、磁気顕微鏡で測定した電流素片分布を重ねて、その画像をスクリーンに表示した。これによりリアルタイムで細胞の機械的運動と形状変化の動きと各細胞の活性化度の両方を容易に観察できた(図10)。

30

【産業上の利用可能性】

【0117】

本発明により、リアルタイムで細胞の機械的運動と形状変化の動きと各細胞の活性化度の両方を容易に観察できるようになり、細胞特にIPS細胞の生育観察がより正確に観察できるようになる。さらにシャーレと磁気センサ素子グリッド基板とを分離することによって経済的に優れた磁気顕微鏡を可能にした。

40

【符号の説明】

【0118】

10：磁気センサ素子グリッド基板(磁気センサ素子グリッド)、

101：磁気センサ素子、102：被覆部(磁気センサ素子グリッド基板の被覆部部)、

11：シャーレ、111：シャーレ底面(シャーレ外側の底部)、12：細胞(細胞集合体、細胞液)

2：磁気センサ素子(GSRセンサ素子)

21：基板、22：磁性ワイヤ、23：検出コイル、24：ワイヤ端子、25：ワイヤ電極、

26：配線、27：コイル端子、28：コイル電極、29：配線

50

## 【 0 1 1 9 】

3 : 磁気センサ素子グリッド (グリッド単位素子の平面図)

3 1 : グリッド基板 (基板)

3 2 : グリッド単位素子 (単位素子)

3 2 1 x : X軸方向の磁気センサ素子 (G S Rセンサ素子)、3 2 1 y : Y軸方向の磁気センサ素子 (G S Rセンサ素子)、3 2 1 z : Z軸方向の磁気センサ素子 (G S Rセンサ素子)、3 2 1 o : 原点 (単位素子の原点、磁界ベクトルセンサの原点)、3 2 1 w : 磁性ワイヤ

3 3 : 素子台座

3 3 0 : 台座、3 3 1 : 台形斜面、3 3 2 : 稜線、3 3 3 : 上面

10

## 【 0 1 2 0 】

4 : 素子グリッド (素子グリッド、シャーレおよび細胞液の断面図)

4 ( 4 1 ) : 1軸素子グリッド - Z軸タイプ

4 0 : シャーレ、4 1 1 : G S R素子、4 1 2 : A S I C、4 1 3 : 電極、4 1 4 : グリッド配線 (配線)、4 1 5 : 被覆部

4 ( 4 2 ) : 1軸素子グリッド - X軸タイプ

4 0 : シャーレ、4 2 1 : G S R素子、4 2 2 : A S I C、4 2 3 : 電極、4 2 4 : グリッド配線 (配線)、4 2 5 : 被覆部

4 ( 4 3 ) : 1軸素子グリッド - Y軸タイプ

4 0 : シャーレ、4 3 1 : G S R素子、4 3 2 : A S I C、4 3 3 : 電極、4 3 4 : グリッド配線 (配線)、4 3 5 : 被覆部

20

4 ( 4 4 ) : 2軸素子グリッド

4 0 : シャーレ、4 4 1 : G S R素子、4 4 2 : A S I C、4 4 3 : 電極、4 4 4 : グリッド配線 (配線)、4 4 5 : 被覆部

4 ( 4 5 ) : 3軸素子グリッド

4 0 : シャーレ、4 5 1 : G S R素子、4 5 2 : A S I C、4 5 3 : 電極、4 5 4 : グリッド配線 (配線)、4 5 5 : 被覆部

## 【 0 1 2 1 】

5 : 細胞集合体

5 1 : 細胞、5 1 1 : 等高線、5 1 2 : 電流素片

30

5 2 : 細胞、5 2 1 : 等高線、5 2 2 : 電流素片

5 3 : 細胞、5 3 1 : 等高線、5 3 2 : 電流素片

5 4 : 細胞、5 4 1 : 等高線、5 4 2 : 電流素片

5 5 : 細胞、5 5 1 : 等高線、5 5 2 : 電流素片

## 【 0 1 2 2 】

6 : 磁気顕微鏡と光学顕微鏡の一体システム

6 1 : 磁気センサ素子グリッド基板 (磁気顕微鏡)、6 1 1 : 磁気センサ素子 (G S Rセンサ素子)、6 1 2 : 透明のグリッド基板

6 2 : シャーレ、

6 3 : 細胞集合体、

40

6 4 a : 落射型光学顕微鏡、6 4 b : 透過型光学顕微鏡

6 5 : C C Dカメラ

6 6 : 透過型光学顕微鏡の光源

7 : 細胞集合体

7 1 : 激しい運動箇所

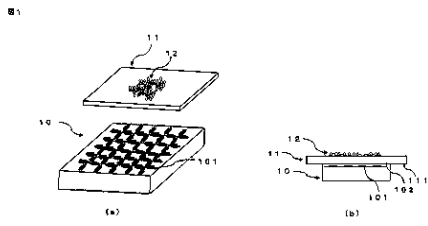
【要約】 (修正有)

【課題】 I P S 細胞の生育観察は、光学顕微鏡でその成長過程や運動状況が観察されているが、個々の細胞の活力を観察することができないので、適切に生育過程を管理することが難しい状況にある。そのため、個々の細胞の活力を観察できる磁気顕微鏡を提供する。

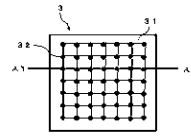
【解決手段】本発明は、従来の G S R センサをより小型化して、磁気センサ素子グリッド基板 6 1 に緻密に配置して、磁気センサグリッドを作製して、それを細胞観察時のシャーレ 6 2 の下に配置して、細胞が発する磁界を計測し、細胞内に流れる電流素片分布を計算し、それを P C 画像にイメージ図として表示することを可能にした磁気顕微鏡である。この磁気顕微鏡と光学顕微鏡 6 4 a を組み合わせることで、リアルタイムで細胞の機械的運動と形状変化の動きと各細胞の活性化度の両方を容易に観察できるようにすることができる。

【選択図】図 8

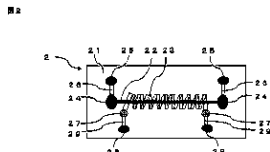
【図1】



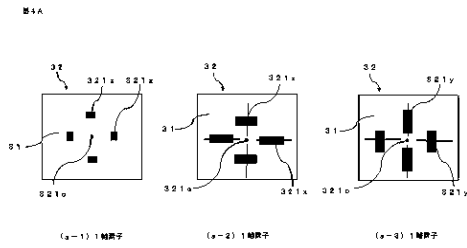
【図3】



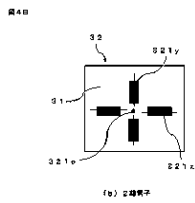
【図2】



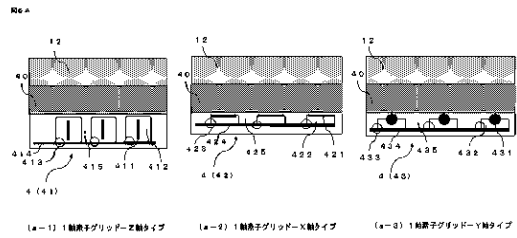
【図4A】



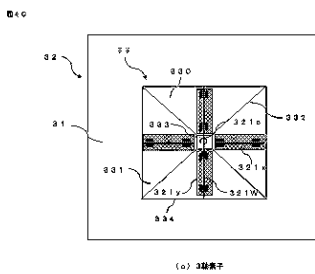
【図4B】



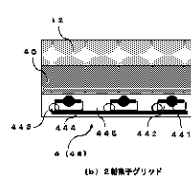
【図5A】



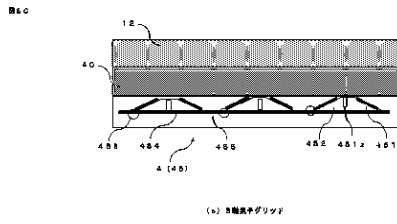
【図4C】



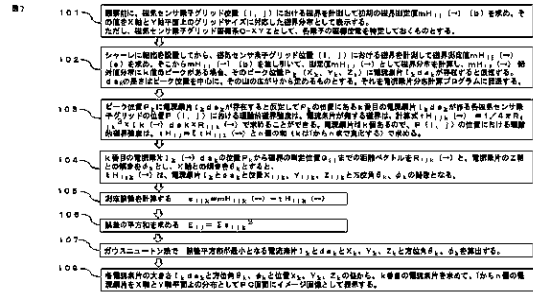
【図5B】



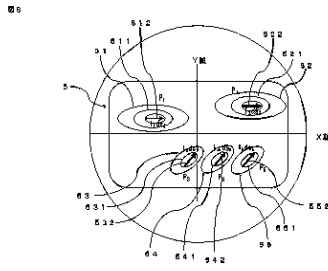
【図5C】



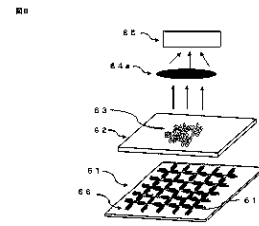
【図7】



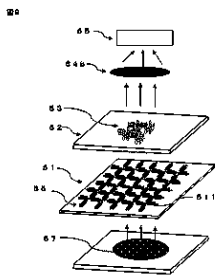
【図6】



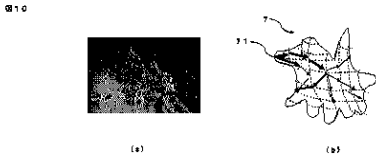
【図8】



【図9】



【図10】



## フロントページの続き

- (56)参考文献 特開2011-089894(JP,A)  
国際公開第2009/130814(WO,A1)  
特開2008-188305(JP,A)  
米国特許出願公開第2020/0326391(US,A1)  
中国特許出願公開第101206217(CN,A)  
米国特許出願公開第2013/0093420(US,A1)  
早見 武人 Takehito HAYAMI, 計測磁界から神経線維内の電流源の位置を推定する手法についてのシミュレーションによる検討 Simulation Study of the Procedure to Estimate the Positions of Electric Current Sources in a Nerve Fiber with Magnetic Field Measurement, 電子情報通信学会技術研究報告 Vol.104 No.179 IEICE Technical Report, 日本, 社団法人電子情報通信学会 The Institute of Electronics, Information and Communication Engineers, 2007年07月07日, 第104巻, p.29-32

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 27/72 - 27/9093  
G01R 33/10  
G01N 33/483  
C12M 1/00 - 3/10  
C12Q 1/00 - 3/00