(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3634368号
(P3634368)
(45)発行日　平成17年3月30日(2005.3.30)　(24)登録日　平成17年1月7日(2005.1.7)

(51)Int.Cl.[7]　F I
G01N 21/64　G01N 21/64　C
A61B 5/145　A61B 5/14　310

請求項の数 14　(全 29 頁)

(21)出願番号　特願平7-511774
(86)(22)出願日　平成6年8月18日(1994.8.18)
(65)公表番号　特表平9-503866
(43)公表日　平成9年4月15日(1997.4.15)
(86)国際出願番号　PCT/US1994/009379
(87)国際公開番号　WO1995/010766
(87)国際公開日　平成7年4月20日(1995.4.20)
審査請求日　平成13年8月20日(2001.8.20)
(31)優先権主張番号　08/136,967
(32)優先日　平成5年10月14日(1993.10.14)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者
ミネソタ　マイニング　アンド　マニュファクチャリング　カンパニー
アメリカ合衆国，ミネソタ　５５１３３－３４２７，セント　ポール，ポスト　オフィス　ボックス　３３４２７，スリーエム　センター（番地なし）
(74)代理人
弁理士　石田　敬
(74)代理人
弁理士　平岩　賢三
(74)代理人
弁理士　西山　雅也

最終頁に続く

(54)【発明の名称】発光ケンチングセンサ

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

対象動作範囲内にある検体の濃度を測定する装置であって、

前記検体、又はこの検体に既知の関係で関連する物質を備えるケンチャーを通すマトリックス材料と、前記ケンチャーに対して二分子ケンチング定数k_q及び最低寿命τ_{0L}より長い一つ以上の蛍光発光寿命τ_0を有する発光インジケータとを具備し、ケンチャーの存在下で励起信号に露出されると、検体濃度の関数として変化する検体濃度依存性の信号を発することが出来るセンサ素子と、

前記センサ素子に連結すると共に、一つ以上の発光周波数ωで励起信号を発する励起システムと、

前記センサ素子に連結すると共に、検体濃度依存性の信号を検出して、検出信号を与える検出器と、

検体濃度と第１濃度依存性パラメータ間の関係を特徴付ける校正情報を記憶するメモリを含み、第１検出信号を一変量処理して第１濃度依存性パラメータを導くと共に、導かれた濃度依存性パラメータと記憶されている校正情報の関数として検体濃度を示す出力信号を与えるプロセッサとを具備し、

前記センサ素子及び前記励起システムの少なくとも一方は、［Ｑ］を前記マトリックス材料中のケンチャー濃度とするとき、対象動作範囲内の全ての検体濃度、及び前記τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に対して、量$\{[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2\}$が量$\{1+2k_q\tau_0[Q]\}$より大きくなる動作条件内でセンサ装置が動作できるように構成された検体濃

度測定装置。
【請求項２】
対象動作範囲内にある検体の濃度を測定する装置であって、
前記検体、又はこの検体に既知の関係で関連する物質を備えるケンチャーに露出するように形成され、このケンチャーに対して二分子ケンチング定数k_q及び最低寿命τ_{0L}より長い一つ以上の蛍光発光寿命τ_0によって特徴付けられる発光インジケータを具備し、ケンチャーの存在下で励起信号に露出されると、検体濃度の関数として変化する検体濃度依存性の信号を発することが出来るセンサ素子と、
前記センサ素子に連結すると共に、一つ以上の発光周波数ωで励起信号を発する励起システムと、
前記センサ素子に連結すると共に、検体濃度依存性の信号を検出して、検出信号を与える検出器と、
検体濃度と濃度依存性パラメータ間の関係を特徴付ける校正情報を記憶するメモリを備え、検出信号を一変量処理して濃度依存性パラメータを導くと共に、導かれた濃度依存性パラメータと記憶されている校正情報の関数として検体濃度を示す出力信号を与えるプロセッサとを具備し、
前記センサ素子及び前記励起信号システムの少なくとも一方は、［Ｑ］を前記センサ素子中のケンチャー濃度とするとき、濃度依存性パラメータとケンチャー濃度間の関係勾配が、対象動作範囲内の全ての検体濃度、及び前記τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に対して、τ_0の変動に独立であるように、量$\{[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2\}$が量$\{1+2k_q\tau_0[Q]\}$より大きくなる動作条件内で装置が動作できるように構成されている検体濃度測定装置。
【請求項３】
前記励起信号の周波数は、対象動作範囲内の全ての検体濃度、及び前記τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0より、量$\omega\tau_0$が大きいという動作条件を与え、前記検体及びケンチャーは酸素である請求項１又は２に記載の装置。
【請求項４】
前記センサ素子は、対象動作範囲内の全ての検体濃度、及び前記τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0より、量$k_q\tau_0[Q]$が大きいという動作条件を与えるように構成されると共に、このセンサ素子は前記ケンチャーを通すマトリックスを更に具備し、前記検体は酸素、イオン化水素、及び二酸化炭素を含むグループから選択される請求項１乃至３の何れか一項に記載の装置。
【請求項５】
前記励起信号は一定の発光周波数ω_1を有し、前記センサ素子は、前記励起信号に関して$\Delta\Theta_1$だけ位相シフトされ、且つ復調率m_1で復調された検体濃度に依存する信号を発光し、前記プロセッサは前記検出信号を一変量処理して前記発光信号と前記励起信号かの位相シフトを導き出す請求項１乃至４の何れか一項に記載の装置。
【請求項６】
前記透過性のマトリックスはポリマーを備え、前記検体及び前記ケンチャーは酸素である請求項１乃至５の何れか一項に記載の装置。
【請求項７】
前記励起信号は、発光ダイオード、レーザダイオード、２倍周波数レーザダイオード、及び個体光源からなるグループから選択した光源によって発信される請求項１乃至６の何れか一項に記載の装置。
【請求項８】
前記発光インジケータは、少なくともその一つが単量体インジケータ成分である少なくとも二つの単量体成分を備え、前記センサ素子は、前記励起信号に露出されると非反応第１励起状態からの第１発光信号と、前記センサ素子内で前記単量体成分から作られる反応第２励起状態複合体とを与え、前記第１そして／又は第２発光信号は一変量処理されて前記検体の濃度を決定する請求項１乃至７の何れか一項に記載の装置。

【請求項９】
前記センサ素子は、動脈カテーテルのａ－ライン回路内で動作するように構成されている請求項１乃至８の何れか一項に記載の装置。
【請求項１０】
前記検出信号を、監視されるパラメータと検体濃度との間の関係を示す校正曲線と比較する段階を更に含む請求項１乃至９の何れか一項に記載の装置。
【請求項１１】
前記濃度依存性パラメータは、一定位相ソフト又は復調率を与えるのに必要な変調周波数である請求項１乃至10の何れか一項に記載の装置。
【請求項１２】
前記検体は、酸素、イオン化水素、及び二酸化炭素からなるグループから選択される請求項１乃至11の何れか一項に記載の装置。
【請求項１３】
前記プロセッサは、検体濃度と、前記検体濃度依存性信号の一つと前記励起信号間の位相シフトとの関係を特徴付ける記憶情報を具備し、前記検出信号を一変量処理して前記位相シフトを導き、前記記憶情報と前記導かれた位相シフトの関数として検体濃度を示す出力信号を与える請求項１乃至12の何れか一項に記載の装置。
【請求項１４】
前記プロセッサは、検体濃度と、前記第１検体濃度依存性信号と第２検体濃度依存性信号間の位相シフト差との関係を特徴付ける記憶情報を具備し、前記検出信号を一変量処理して前記位相シフト差を導き、前記記憶情報と前記導かれた位相シフト差の関数として検体濃度を示す出力信号を与える請求項１乃至13の何れか一項に記載の装置。
【発明の詳細な説明】
発明の属する技術分野
本発明は、全体として媒体中にある対象検体の濃度を測定するセンサに関する。特に、本発明は血液ガス（例えば、酸素、イオン化水素、イオン化カリウム、二酸化炭素等）の濃度を監視する動的発光（例えば、蛍光発光）のケンチング／位相変調を基調としたセンサに関する。
発明の背景
一般に、動的位相変調、蛍光発光を基調としたセンサは公知である。この種の測定器は例えば、病院に於ける使用を目的として、患者の血中の酸素、イオン化水素、二酸化炭素等のガス濃度を監視するために開発され、提案されている。対象の物質（例えば、酸素）は検体として知られている。
発光体（fluorophor）と言われる蛍光発光性の物質には、この物質に光源からエネルギーが与えられると、そのエネルギーを吸収し、その物質のエネルギーは、基底状態エネルギーレベルから励起状態エネルギーレベルに押し上げられると言う、良く知られた性質がある。発光体はその励起状態では不安定で、基底状態に戻るときに蛍光発光（放射性崩壊）するか、又は過剰な熱エネルギーの放出（非放射性崩壊）を行う。蛍光の寿命τは、発光体がその基底状態に戻る以前にその励起状態に止まる平均時間を表す。蛍光の発光強度Ｉは、発光体がその基底状態に戻るときに出す発光強度を表す。
センサ素子中の発光体が、ケンチャー（quencher）Ｑとして知られるもう一つの拡散性物質の存在するところで光励起を受けると、励起状態にある発光体とケンチャーとの間の相互衝突作用によって非放射性崩壊のための新しいメカニズムが導入され、その結果、蛍光強度と励起状態に止まる寿命の両者に減少が起こる。この過程は、動的蛍光ケンチングとして知られている。更に、蛍光強度と寿命が、ケンチャーの存在しない状態に於ける強度I_0及び寿命τ_0からそれぞれ減少する量は、発光体が蛍光を発光している間に曝されるセンサ素子内のケンチャー量［Ｑ］に直接関係している。ケンチャーの在・不在に於ける蛍光強度と寿命との関係は、以下のStern－Volmerの式によって記述される。即ち：
$I_0/I=\tau_0/\tau=1+k_q\tau_0$［Ｑ］
ここで、

I_0　：ケンチャー不在時の蛍光発光強度
Ｉ　：ケンチャー存在時の蛍光発光強度
τ_0　：ケンチャー不在時の励起状態寿命
τ　：ケンチャー存在時の励起状態寿命
k_q　：センサ素子中の二分子ケンチング率定数
［Ｑ］　：センサ素子中のケンチャー濃度
である。
従って、蛍光強度又は寿命の測定は、センサ素子内のケンチャー濃度の決定に利用することが可能であり、例えば血中酸素の決定にセンサ内の酸素を利用することが可能である。センサ素子中の酸素濃度［O_2］は溶解度定数ａによって血流中の酸素分圧P_{O2}に関係付けることができる。従って、Stern－Volmerの一般式は：

$$I_0/I = \tau_0/\tau = 1 + ak_q\tau_0 P_{O2} = 1 + K_{SV}P_{O2}$$

となる。ここで、

$$K_{sv} = ak_q\tau_0$$

$$a = [O_2]/P_{O2}$$

［O_2］はセンサ素子中の酸素濃度
P_{O2}は被検出媒体中の酸素の分圧
である。
酸素はセンサ素子に対して、しばしば検体であると同時に蛍光発光性のケンチャーとなるが、常にそうであるとは限らず、又そうである必要はない。対象の蛍光発光性ケンチャーと検体は異なる物質であって良いが、対象検体の濃度は既知の関係によってケンチャー濃度に関係付けられている。例えば、Analytical Chemistry,Vol.62,No.21（Nov.1,1990）に掲載のMoreno－Mondi等による論文には、グルコース酸化酵素によって触媒作用を受けた酸素のグルコース依存消費に基づいたグルコースセンサが記載されている。グルコース酸化酵素は酸素センサ素子の表面に固定化される。外部媒体中のグルコース濃度が増加すると、センサ素子中でより多くの酸素が消費され、その結果、酸素による蛍光発光の動的ケンチングに変化が起こる。それ故、検体濃度は測定器によって実際に測定されたケンチャー濃度の関数として計算される。
本願の目的から、ここで言う用語「ケンチャー」は、実際の蛍光ケンチング物質を言うのに用いており、このケンチャーは対象検体であるか、又はこの対象検体に既知の関係で関係付けられる他の物質である。対象検体の濃度は測定されたケンチャー濃度と、検体－ケンチャー間にある既知の関係とに基づいて決定することが出来ることを理解すべきである。
光学的検出法によって蛍光発光の寿命決定を行う利点は、それが染料濃度、光学的結合効率、及びランプ変動に影響を受けない点にあることは良く認識されている。
位相－変調蛍光分光法は、発光体の寿命τを決定するための公知の一方法である。この位相－変調法の間、検体を含む媒体は、好ましくは発光周波数ω＝２πｆ（ｆは１秒当たりのサイクルの周波数）で正弦的に振幅変調された光ビーム、又はその他の信号によって励起される。発光体からの蛍光発光はこの励起信号に対する強制応答であり、それ故、励起信号と同じ周波数ωで振幅変調される。しかし、励起状態にある発光体の限られた寿命のため、発光は励起信号に関して角度Θだけ位相シフトされる。更に、発光の振幅、即ち強度は励起信号に関する量ｍだけ少なく変調（復調）される。従って、発光体の寿命は、位相シフト（$\tan\Theta = \omega\tau$）の測定と、復調率（$m = (1 + \omega^2\tau^2)^{-1/2}$）とから既知の方法で計算することが出来る。
公知の位相－変調蛍光発光を基調とするセンサ装置、例えばDukes等による米国特許番号第4,716,363号及びBarnes等によるカナダ特許願番号第2,000,303号に記載されているセンサ装置は、媒体中の検体濃度、例えば血中酸素の分圧を測定するために、上述の位相－変調技術（本明細書で言う「一変量的」動作）を利用している。これらのセンサ装置は光ファイバセンサ素子を含み、このセンサ素子はその基端部を光学的励起システムと、光学的検出器の両者に接続している。光ファイバの末端、即ち先端は重合体マトリックスを具備

し、このマトリックスはケンチャーに対して透過性を示し、且つ、染料の形態を取った蛍光発光可能なインジケータ成分を一つ以上含んでいる。体内用センサの場合、センサ素子は酸素濃度をオンラインで監視するため、患者の血管に挿入が可能なプローブ、即ちカテーテルの形に形成される。

位相－変調蛍光分光法に於いては、変調周波数は、典型的には対象検体濃度の範囲内に於いて、$\omega\tau \quad 1$となるように選ばれる。これは45度に近い位相角に対応し、この場合、測定された位相シフト及び復調率の小さな誤差による寿命計算への影響が最も少なくなる。Proc.SPIE－Int.Soc.Opt.Eng.,V.1885（Proceedings of Advances in Fluoresence Sensing Technology,1993）pages 216－227に掲載されているHolst等による論文、及びBacon等による米国特許番号第5,030,420号は酸素センサについて述べており、このセンサは位相シフトを固定変調周波数に於ける酸素濃度の関数として測定している。この時の位相情報は、酸素濃度の関数として蛍光寿命を決定するのに使用される。Holst等の論文は、ケンチャー不在時の発光体励起状態に於ける寿命は250nsecであり、このことから最適変調周波数f_{opt}＝777kHz（$\omega\tau \quad 1$）を決定している。同様の理由から、「一変量」センサ装置は、典型的には対象の濃度範囲に関して$\omega\tau \quad 1$又は$\Theta \quad 45^\circ$となるように構成される。例えば、Dukes等による米国特許番号第4,716,363号は、約45°の一定位相シフトを与えるのに必要な変調周波数を出すフィードバックシステムについて述べている。ここで得られた周波数は、検体濃度の関数として励起状態に於ける寿命を決定するのに用いられる。Dukes等は一定位相角のアプローチは、対象検体濃度の全てに対して$\omega\tau＝1$となる有利性を提供するものであることを示唆している。

“Fiber Optic Chemical Sensors and Boisensors"と題するWolfbeisの著書の中で彼が論じている通り、又Mauze等が米国特許番号第5,057,277号によって教示するように、検体濃度の決定に当たって強度又は寿命測定を利用する際、Stern－Volmerのケンチング定数$K＝ak_q\tau_0$が大きすぎるのは、望ましくない筈である。特に、ケンチング定数が大き過ぎると、検体濃度の狭い範囲で、寿命及び強度に比較的大きい変化が起こる。より大きな対象検体の濃度では、蛍光強度及び寿命に関する検体依存性の変化が、好ましくない状態にまで小さくなってしまう。こうしたことに対する考慮は、例えば酸素分圧P_{O2}＝40～120mm（水銀柱）、好ましくはP_{O2}＝40～200mm（水銀柱）の範囲で精度が望まれる血中の酸素分圧を監視するセンサの適当なデザインに関連する。この範囲では、典型的には約3mm（２%）の最小精度が要求される。

患者身体への挿入用としてセンサ素子を形成する場合、センサ素子は直径125μmと言う小型化が要求される。それ故、センサ素子の先端に収納できる発光染料の量は自ずと制限され、その結果として蛍光信号は比較的低くなる。この問題は、染料の量そして／又は光子フラクスを増加させることによって部分的には対処できる。しかし、残念なことに蛍光発光ケンチングセンサに適当な染料は、しばしば染料凝縮、光ブリーチング（photobleaching）を起こすことがある。この凝縮そして／又は光ブリーチングによって、染料内のインジケータ成分は多くの異なった寿命τ_0、即ち異種の寿命を示すようになる。どんなセンサの場合も、異種の寿命はエージングそして／又は光劣化によって変化する。製造過程に於ける変数によっても、センサ毎に寿命が変化する結果となる。

励起状態の寿命測定を基にした校正プロットは、寿命を決めるに当たって用いた方法に依らず必然的にτ_0の変化に伴って変化する。典型的には、二点方式によるセンサの校正処理及び再構成処理が必要である。最初の校正はセンサ組立後、又は使用の直前に行われる。再構成はセンサの使用中、その測定精度を保つためにしばしば要求される。二点方式の校正処理では、それぞれ既知の検体濃度を持った二つの校正体（calibrant）を使用する。これら校正体は典型的には測定が行われる範囲に於ける最大及び最小濃度に近い既知の検体濃度を有している。二点校正処理の間、センサ素子は交互に二つの校正体に曝され、センサが正確な検体濃度の読みを与えるように校正プロットの勾配と切片を決める。要するに、二点式方式による校正では、センサプロセッサのメモリに記憶されている参照データ表又は数式によって代表される校正データの勾配及び切片を、そのデータによって特徴付けられる関数が既知の校正体データに対応する点を通って延長するまで調整する。

二点方式の校正処理では、センサ素子を二つの校正体に曝すことが必要なため、体内用及び体外用センサの両者とも、再校正のために動脈にカテーテルを入れている患者のａ－ライン回路（ａ－line circuit）から外されなければならない。しかし、このことは例えば、感染の危険を増すことによって患者を危険に曝すことになるから、殆どの臨床環境で受け入れることは出来ない。亦、二点方式の校正処理は比較的時間の掛かる処理でもある。改良された位相－変調、蛍光発光を基調としたセンサ装置に対して、引き続き要求のあることは明らかである。特に、異種の寿命や、その他の寿命変動によって生ずるドリフトや不安定性に影響を受けない勾配、又は勾配と切片を持った校正プロットを有するタイプのセンサが必要である。寿命τ_0の変動に影響を受けない勾配を有する校正プロットによって特徴付けられたセンサは、既知の検体濃度を有する唯一の校正体を使用して校正することが出来る能力を備えるだろう。勾配は、センサ製造の間に起こる望ましくない染料凝縮に関連した寿命τ_0の変動に依存しないだろう。更に、センサ内のより大きいτ_0を持つ化学種の差動的光劣化は、校正プロットの切片に変化を起こすが、勾配には変化を起こさないだろう。一点校正が可能なセンサは、体内にある時にも再校正が可能なため、体内に於ける血中ガス監視に関し市場での受け入れを増加させるだろう。

発明の概要

本発明は、検体濃度を測定する位相－変調、蛍光発光を基調としたセンサ装置である。この装置は正確な一点方式による生体内又は生体外での再校正を行えるように構成することが可能である。

本発明によるセンサ装置は、ケンチャー（即ち、対象検体又はこの対象検体に関連する物質）に露出するように構成され、ケンチャーに対して二分子ケンチング率定数k_qと、最低寿命τ_{0L}より長い一つ以上の蛍光発光寿命τ_0とによって特徴付けられた少なくとも第１発光インジケータを含み、ケンチャーの存在下で励起信号に露出されたとき、検体濃度の関数として変化する濃度依存性のパラメータを有する濃度依存性信号を発することが出来るセンサ素子を具備している。このセンサ素子に接続する励起システムは、一つ以上の発光変調周波数ωで振幅変調された励起信号を供給する。例えば、励起信号は正弦波形、或いは基本変調周波数ωと、この周波数ωの高調波とによって定義される方形波のような複合波形の形を取ることが可能である。センサ素子に接続する検出器は、検体濃度依存性の信号を検出し、検出信号を出力する。プロセッサは、好ましくは検体濃度と濃度依存性パラメータ間の関係を特徴付ける情報を記憶するメモリを含み、検出器に接続される。このプロセッサは検出信号を一変量処理して、濃度依存性パラメータを導き、この導かれた濃度依存性パラメータと記憶情報の関数として検体濃度を示す出力信号を与える。

センサ素子そして／又は励起システムは、濃度依存性パラメータと検体濃度間の関係の勾配が、動作範囲内の全ての検体濃度及び最低寿命τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に関して、このτ_0の変動性そして／又は異種性に対して独立となるように、条件$[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2 \gg 1+2k_q\tau_0[Q]$内でセンサ装置が十分に動作できるように構成される。センサ素子がこの様に構成されると、校正勾配はτ_0の変動性そして／又は異種性に対して独立となる。それ故、既知の濃度を有する一つの校正検体に対するセンサ素子の露出に対応する関係の切片（勾配ではない）を特徴付ける記憶校正情報を修正することによって、センサを再校正することが出来る。

センサ素子そして／又は励起システムは、センサ装置が条件$[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2 > 4[1+2k_q\tau_0[Q]]$内で十分に動作できるように構成されるのが好ましい。また、センサ素子そして／又は励起システムは、センサ装置が条件$[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2 > 6[1+2k_q\tau_0[Q]]$内で十分に動作できるように構成されるのが更に好ましい。更にまた、センサ素子そして／又は励起システムは、センサ装置が条件$[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2 > 10[1+2k_q\tau_0[Q]]$内で十分に動作できるように構成されるのが更に好ましい。

本発明の一実施例に於けるセンサ装置は、動作範囲内の全ての検体濃度及び最低寿命τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に関して、$\omega\tau_0 > 10$と言う条件内で、センサ装置の動作を可能にする高い変調周波数の励起信号を出力する励起システムを具備している。また、他の

実施例では、センサ素子は、動作範囲内の全ての検体濃度及び最低寿命τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に関して、$k_q\tau_0$［Q］＞20と言う条件下でセンサ装置が動作出来るようにする十分に大きい溶解度そして／又は拡散率をその特徴としている。
更に、他の実施例に於けるセンサ装置そして／又は励起システムは、濃度依存性パラメータと検体濃度との間の関係の勾配及び切片の両者が、動作範囲内の全ての検体濃度及び最低寿命τ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に関して、このτ_0の変動性に対して独立となるように、［（k_q［Q］）$^2+\omega^2$］$\tau_0^2 \gg 1+2k_q\tau_0$［Q］及び$k_q\tau_0$［Q］＞９と言う条件内で、センサ装置の十分な動作が可能になるように構成される。それ故、センサ装置の再校正が不必要となる。

【図面の簡単な説明】

第１図は、量$\omega\tau_0$及び$k_q\tau_0$［Q］の関数として量［［（k_q［Q］）$^2+\omega^2$］τ_0^2］／［１＋$2k_q\tau_0$［Q］］を示す三次元立体図である。
第２図は、本発明によるセンサ装置の一実施例を示す概略図である。
第３図は、本発明によるセンサシステムを示す概略図である。
第４図及び第５図は、酸素分圧の関数として二つの単量体インジケータ成分に付いて測定した位相シフト及び復調率に関する変調周波数の効果を示すグラフである。
第６図は、第４図及び第５図のインジケータに関するStern－Volmerプロットを示すグラフである。
第７図及び第８図は、変調周波数の関数として二つの単量体インジケータ成分及びこれら二つの成分の混合物に関する校正データを示すグラフである。
第９図は、二つの単量体インジケータ成分及びこれら二つの成分の混合物に関する周波数vs酸素分圧のグラフである。（位相－変調モード３）
第10図は、エクシマー形成システムに関するStern－Volmerプロットを示すグラフである。
第11図は、エクシマー形成システムに関し、酸素分圧の関数として二つの変調周波数に於ける位相シフト差を示すグラフである。
第12図及び第13図は、シリコーンラバーマトリックス中の二つの単量体インジケータ成分及びこれら二成分の混合物に関して計算された校正データを変調周波数の関数として示すグラフである。
第14図は、第12図及び第13図の二つの単量体成分に関し、計算されたStern－Volmerプロットを示すグラフである。
第15図は、蛍光強度の酸素感応性に関するak_q変化の効果を示すグラフである。
第16図及び第17図は、二つの単量体インジケータ成分及びこれら二成分の混合物に関し、位相シフトvs酸素分圧及び復調率vs酸素分圧それぞれの計算された校正データを示すグラフ。
第18図は、二つの単量体インジケータ成分及びこれら二成分の混合物に関する位相－変調モード３の計算された校正データを示すグラフである。
第19図は、二つの単量体インジケータ成分及びこれら二成分の混合物に関する位相－変調モード４の計算された校正データを示すグラフである。
第20図は、比較的長い寿命を有する二つの単量体インジケータ成分及びこれら二成分の混合物に関して、酸素分圧の関数として一定位相シフト（位相－変調モード３）に於ける周波数の校正プロットを示すグラフである。
第21図は、比較的長い寿命を有する二つの単量体インジケータ成分及びこれら二成分の混合物に関して、酸素分圧の関数として一定変調周波数（位相－変調モード１）に於ける位相シフトの校正プロットを示すグラフである。
第22図は、量$\omega\tau_0$及び$k_q\tau_0$［Q］の関数として校正勾配を示す三次元立体図である。

好適実施例の詳細な説明

本願で使用している用語「発光性インジケータ（emissive indicator）」又は「発光体（fluorophore）」とは、光励起信号のような励起信号への露出に応答して光学的に検出可能な信号を発生する如何なる化学種をも指すものとし、この発光性信号（「発光された信

号」とも呼ぶ）は検体又は検体に関連したケンチャー（quencher）によって動的ケンチングを受ける信号を言う。
本願で使用している用語「単量体成分（monomeric component）」とは、光励起信号のような励起信号への露出に応答して光学的に検出可能な信号をそれ自身で出すか又は出すことのない化学種であって、励起状態複合体の形成に寄与するものを言う。
本願で使用している用語「単量体成分インジケータ（monomeric component indicator）」とは、励起信号、好ましくは励起信号への露出に応答して、好ましくは光学的に検出可能な信号を出す単量体成分を言う。
本願で使用している用語「エクシマー成分（excimer cpmponent）」とは、同じインジケータ構造を有する二つの単量体インジケータ成分間の励起状態複合体を指すと共に、この複合体は「第２発光信号」を与える。第２発光信号は検体又は検体に関連するケンチャーから動的ケンチングを受ける。同じ単量体インジケータ成分の異性体及び互変異性体はこれに含まれる。
本願で使用している用語「エクシプレックス（exciplex component）」とは、そのうちの少なくとも一方が単量体インジケータ成分であって、且つ検体又は検体に関連するケンチャーから動的ケンチングを受ける「第２発光信号」を出す異なる二つの単量体成分間の励起状態複合体を指す。
簡単に言うために、エクシマー成分及びエクシプレックス成分は一般に「励起状態複合体」と呼ばれることがある。また、簡単のために、単語に“s"を括弧書きで添記して、その単語の単数又は複数を示す（例えば、“component（ｓ）”は一つの成分又は複数の成分を示す）。
本発明による位相－変調、蛍光発光を基調としたセンサは、濃度依存性パラメータ（例えば、位相シフト）と検体濃度間に観られる関係の勾配は、ケンチャーが存在していないときの発光体の励起状態寿命τ_0に関して独立であり、また、各τ_0に対して以下の式１の条件が満足されれば、観測される関係に寄与する各発光状態に於ける真性寿命間の異種性及びその他の変化に関しても独立であると言う発見に基づいている。

$$[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2 \gg 1+2k_q\tau_0[Q] \quad （式１）$$

ここで、
［Q］：ケンチャー濃度（例えば、センサ素子又はマトリックス中の検体濃度）
k_q:二分子ケンチング率定数
$\omega = 2\pi f$:発光変調周波数
実際に、位相－変調検出は多くの異なるモードで実施することが可能であり、これらモードの全ては、ケンチャーの無い状態で励起信号に曝されたときに、検体濃度の関数として変化する濃度依存性パラメータを発生する。これら位相－変調検出モードは以下のものを含んでいる。
1.一定変調周波数に於ける位相シフトvs検体濃度
2.一定変調周波数に於ける復調率vs検体濃度
3.一定位相シフトに於ける変調周波数vs検体濃度
4.一定復調率に於ける変調周波数vs検体濃度
上述のモードは、濃度依存性パラメータが監視されたとき、励起システムが励起信号（例えば、変調周波数）又は発光信号（例えば、位相シフト又は復調率）の一つのパラメータを一定に保つように構成される「一変量」システムとしての特徴を備えている。これらの一変量システムでは、監視されたパラメータを一変量処理し、寿命決定はStern－Volmer式の勾配の計算を直接的又は間接的にすら行うことなしに検体濃度を導くことができる。これとは対照的に、The BOC Group,Inc.の欧州特許願公報番号第442,276 A1号及び第442,295 A2号に記載のセンサ装置は、広範囲の周波数を含み、幾つかの周波数の各々に於ける位相シフトそして／又は復調率が検体濃度の決定に使用されるので、多変量システムとしての特徴を備えている。この種の多変量システムは例えば、フーリエ解析用のソフトウェアを用いた発光信号のディコンボリューション処理が必要となる。この多変量処理によるアプローチによって導かれる周波数領域情報は、寿命又はStern－Volmer式の勾配の値を

得るために更に処理され、次いでこれらの値を検体濃度に変換しなければならない。この様に、これら多変量センサ装置の不利な点は、各検体に対して励起システム、検出器及びプロセッサが多くの周波数で連続的に、又は同時に動作するための複雑な構成が要求される点である。

式１の条件下で一変量動作するセンサでは、各τ_0の間に於ける蛍光強度I_iの検体依存性の減少は、各τ_0の間に於ける変調率m_iの検体依存性の増加を、各τ_0の間に於いて変調された振幅が限界$m_i I_i = I_{0i}/\omega\tau_{0i}$に近づく程度に相殺し、その場合、これらの増減は検体濃度に独立となる。従って、測定された位相シフト全体に対する各τ_0間の発光信号の相対的寄与は、検体濃度又は変調周波数と共に認識し得るほどには変化しない。二分子ケンチング率定数k_qがケンチング可能な発光信号の各々に対して同じであると仮定すれば、これらセンサに対する校正勾配は不変となる。濃度依存性パラメータと検体濃度間の関係の切片は依然としてτ_0の変動性の影響を受けやすいが、この関係の勾配はその影響を受けない。上記式１を満足する条件に加え、センサを$k_q\tau_0[Q]>9$と言う条件を満足するように構成すれば、濃度依存性パラメータと検体濃度間の関係の勾配及び切片は、動作範囲内の全ての検体濃度、及びτ_{0L}より大きい全ての寿命τ_0に関し、τ_0の変動性から独立する。

この様な動作特性を持つセンサ装置は重要な利点を備えている。特に、濃度依存性パラメータと検体濃度間の関係の勾配、又は勾配と切片は、センサ毎に色素混合変動を起こす生産過程に於ける種々のパラメータ、及び時間の経過と共にどのセンサにも発生する光の劣化及び色素集合に由来するτ_0の異種性又は変動性の影響を受けないと言う利点がある。それ故、寿命変動の影響を受けない校正勾配を有するセンサは、一つの既知の検体濃度（即ち、「一点校正」）と、所定の勾配に基づいて、濃度依存性パラメータと検体濃度間の校正関係の切片だけを調整することによって再校正することが出来る。例えば、患者の血液ガス（例えば、酸素）のレベルを監視するのに使用する生体内用センサは、血液サンプルを取って、その対象ガス濃度を他の技術を使って測定し、測定したパラメータと検体濃度間の関係（即ち、校正情報）を簡単に調整することによって再校正することが出来るから、センサは他の技術によって測定したものと等しい読みを出力する。こうした生体内用センサの再校正能力は、医療専門家によるこの種のセンサの受け入れを高めるものである。寿命変動の影響を受けない校正勾配と切片を持つセンサ装置は、一度それを設備にセットすれば再校正をする必要が無くなる。

第１図は量$\omega\tau_0$及び$k_q\tau_0[Q]$の関数として、$[[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]]$なる量を示す三次元立体図である。この図は、$[[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]$なる量と、$[1+2k_q\tau_0[Q]]$なる量の比が10を越える領域を示すために、ｚ軸に沿って一頂点を含んで切断した図である。ｘ軸及びｙ軸は、図示のためだけに切断したのであって、本発明を$\omega\tau_0$又は$k_q\tau_0[Q]$の何れかの上限に限定するためのものではない。量$\omega\tau_0$は、励起信号を変調する周波数に直接関係し、その周波数によって制御される量である。量$k_q\tau_0[Q]$はセンサの蛍光発光ケンチング効率に関係し、センサの染料そして／又はホストマトリックスによって決まる量である。第１図に示す井戸型形状の底部は、量$\omega\tau_0$及び$k_q\tau_0[Q]$のセットを一般的に特徴付けていて、伝統的センサはこのセットに関して動作するように構成される。第１図の上部にある平面領域は、式１の条件を満たす量$\omega\tau_0$及び$k_q\tau_0[Q]$を特徴付けるものである。第１図から、本発明によるセンサ装置は、以下に述べる一つ以上の仕方で式１の条件下で動作するように構成することが出来ることは明らかである。即ち、

1. $\omega\tau_0>10$のとき、式１は全ての［Ｑ］に関して常に満足される。
2. $10>\omega\tau_0>1$のとき、$[[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]]>10$であれば、式１は全ての［Ｑ］に関して満足される。
3. $k_q\tau_0[Q]>20$のとき、式１は常に満足される。

本発明によるセンサ装置は、所定の動作濃度範囲にある濃度を持つ検体を監視するように構成される。また、センサは測定に所定の誤差範囲内の精度を与えるように構成される。センサが動作可能であることが濃度範囲及びその動作時に於ける測定精度に応じて、第１

図に図示の井戸型底部と上部平面領域との間には一揃いの動作点が存在し、この動作点に於いて、濃度依存性パラメータと検体濃度間にある関係の勾配はτ_0の変動に対して十分に独立しており、センサが本発明の発見を利用して、全ての対象検体濃度を所定の精度範囲で測定できるようにしている。この明細書に於いて、「τ_0の変動に対して独立」又は「τ_0の変動に対して十分に独立」と言う表現は、センサ装置内にあって、且つ、寿命の下限値τ_{0L}より長い寿命を持った全ての発光性インジケータの寿命に関して、そうした寿命の変動に由来する校正勾配、又は校正勾配と切片に対する変化が、装置誤差のその他の原因と組み合わされたときでも、センサ装置を所定の誤差範囲外で動作させることがない程度に独立であることを意味する。τ_{0L}より短い寿命の不純物の幾ばくかの量は、検出発光信号に対するこの不純物による蛍光発光の寄与が、実質的に校正勾配に影響を与えない限り大目に見ることが出来る。多くのセンサ装置は、$10 \geqq [[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]]>6$と言う条件下で動作するように構成されていれば、所定の動作範囲内の全ての濃度に対して、所定の精度内で測定をすることが出来る。また、他のセンサは、$6 \geqq [[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]]>4$と言う条件下で動作するように構成されていれば、所定の対象範囲内の全ての濃度に対して、所定の精度で測定することが出来る。

本発明によるセンサ装置は、従来の又はその他公知の位相－変調検出技術の何れを使用しても動作するように構成することが可能である。特に外部照合式シングルステートシステム（externally referenced,single state systems）として動作するように構成されるのに加えて、本発明の独創的概念は、マルチシステム、そして／又は“Sensors And Method for Sensing"と題して本願と共通して出願した米国特許出願番号第08/137,289号に記載されているタイプの内部照合式センサ装置にも組み入れることが出来る。本発明を伝統的な装置から区別する特徴は、十分に高い変調周波数ωを選択している点（即ち、「高周波型」装置）であり、そして／又はセンサ染料そして／又は高い拡散率そして／又は溶解特性を有するホストマトリックスを選択している点（即ち、「高拡散そして／又は溶解性」装置）であって、そのため本発明の装置は、式１に示される条件内で、校正勾配又は校正勾配及び切片がτ_0の変動から独立して十分に動作するように構成される。

所謂「シングルステート（single state）」センサでは、蛍光発光は第１励起状態で始まり、発光体（即ち、発光インジケータ）の励起直後に続いて起こる。しかし、多くの発光体の第１励起状態は、センサ素子中の第２成分と反応し、蛍光発光することの出来る第２励起状態化学種（例えば、「励起状態複合体」）を発生する。これらの状況下では、二つの発光信号、即ち上記反応以前の第１励起状態からの蛍光発光、及び反応した第２励起状態に在る化学種からの蛍光発光を観測することが出来る。この種のシステムは、「ツーステート（two state）」又は「ツーステートシステム（two state system）」として知られている。典型的な励起状態反応にはエクシマー及びエクシプレックスの成分形成、励起状態プロトン化及び非プロトン化、及びエネルギー輸送が含まれる。多くの場合、励起状態過程は単純なツーステートの反応機構（reaction scheme）によって説明できる。各励起状態は、それ自身の蛍光発光波長及びそれ自身の励起状態寿命を有している。第１発光信号の波長は第２発光信号の波長より短い。

先に述べた未決の米国特許出願番号第08/137,289号はその実施例で、内部参照式ダイナミック蛍光発光ケンチング／位相－変調センサに於けるツーステート発光体を形成するエクシマー及びエクシプレックスの使用について記載している。センサ素子は、少なくとも一つの単量体成分が単量体インジケータ成分であるマトリックス材料内に位置するか、又はそれに共有結合する一以上の単量体成分を含んでいる。これら単量体インジケータ成分の各々は、第１励起信号に曝されて第１発光信号を発することが出来る。第２発光信号は、単量体成分中の一つに対する励起状態反応から作られる励起状態複合体（例えば、エクシマー成分、又はエクシプレックス成分）によって発生される。第１発光信号と同様、第２発光信号はケンチャーが存在しない時のセンサ素子に於ける寿命τ_0及び強度I_0によって特徴付けられる。ケンチャーが存在しない時の励起状態複合体の寿命は、反応していない単量体励起状態の寿命よりかなり長い。このことが真である限り、ケンチャーが存在して

いる時には、励起状態複合体はそのケンチャーQによってもっと広範囲にケンチングを受ける。励起状態複合体からの第２発光信号である蛍光発光もケンチャーによって動的ケンチングを受ける。ケンチャーの存在時及びその不在時に於けるこれら励起状態複合体の寿命と強度との間の関係が、励起状態複合体のインパルス応答に対するStern－Volmerの振る舞いを決定する。それ故、位相－変調検出技術を検体濃度の決定に使用することが出来る。更に、校正勾配は、式１の条件が反応励起状態寿命τ_0の各々に対して満足される第２発光信号に於けるτ_0の変動に独立になる。

シングルステートシステムセンサ装置に於ける位相－変調検出は、濃度依存性パラメータを外部発生の励起信号に照合することを含んでいる。ツーステートシステムに於ける位相－変調は、装置オフセット又は信号を伝搬する光ファイバの曲がりに帰因する信号の歪み及びその他関連する問題を緩和する内部照合の利点を提供する。第２（例えば、エクシマー又はエクシプレックス）発光信号からの濃度依存性パラメータは、第１（例えば、単量体）発光信号（即ち差動ケンチング）からの濃度依存性パラメータと照合することが出来る。また、第２励起状態発光信号からの濃度依存性パラメータは、外部的に加えられた励起信号又は外部的に加えられた励起信号と第１発光信号の両者の何れかに照合することが出来る。第１及び第２発光信号は光学フィルタによって互いに分離することが出来、個々に検出することが出来る。上記モード１～４として述べた位相－変調技術は全て内部照合を用いた幾つかの方法によって実施することが出来る。例えば、マルチステート発光体センサの場合、上記モード１を用いる位相－変調は、以下の位相関係の何れか一つの関数として検体濃度を計算するように構成されたプロセッサを含むことが出来る。

1. $\Theta_{esc} - \Theta_{monomer}$
2. $\Theta_{esc} - \Theta_{excitation}$
3. $(\Theta_{esc} - \Theta_{excitation}) - (\Theta_{monomer} - \Theta_{excitation})$

又は

4. $\Theta esc + \Theta monomer - \Theta_{excitation}$

ここで

$\Theta_{excitation}$は励起信号の位相、

$\Theta_{monomer}$は第１発光信号の位相、そして

Θ_{esc}は第２発光信号の位相である。

（尚、escはexcited state complex（励起状態複合体）の略である）

本発明の発見を実施できるセンサ装置10の全体を第２図に示す。装置10は検出プローブ、即ちセンサ素子16に連結した励起システム14を具備している。ここに示す実施例では、センサ素子16は一つ以上の光ファイバ17によって励起システム14に連結されると共に、ポリマーマトリックス22によってコートされた光学的表面19を備えた端部、即ち先端部を有する光ファイバ17の一部分を含んでいる。また、この光ファイバ17は光検出器26を介して信号処理装置25に連結されている。測定した検体濃度を示す情報は、目視できるように表示装置28に表示される。マトリックス22は、ケンチャー（対象の検体又は既知の関係によって対象の検体と関係する物質を含む）に対し透過性であると共に、その中に分散した一つ以上の蛍光発光インジケータを含んでいる。第２図に図示の通り、ポリマーマトリックス22は、典型的には光学表面19に隣接する光ファイバ18の側面と、この光学表面自身に付着している。付加硬化させたポリシロキサンに酸化鉄顔料を分散させた不透明な外側の被覆24はマトリックス22の全体を覆うようにコートすると共に、このマトリックス以外の光ファイバ18の側面部分をコートする。センサ素子16は、励起システム14が作動する周波数で使用される際に、式１の関係を満足する高拡散率そして／又は溶解度の色素そして／又はホストマトリックスによって構成される点を除いては、その他公知の従来型センサ素子と同様のものであって良い。

励起システム14は、センサ素子16のセンサ色素そして／又はホストマトリックスと共に使用される際に、式１の関係を満足する高い周波数で作動することができると言う要件を別にすれば、その他公知の従来型励起システムと同様のものであって良い。励起システム14は、強度変調した光ビームの形で励起信号を発生する。この光ビームは、典型的には一つ

以上の発光周波数で変調された正弦波であって、光ファイバ17によってセンサ素子16の基部端に連結される。励起信号はポリマーマトリックス22に伝搬し、そこでマトリックス中の蛍光発光インジケータを励起して、振幅変調した光発光信号を出力させる。この発光信号はマトリックスを透過するケンチャーの存在によってケンチング作用を受け、光ファイバ17を介して伝搬し、検出器26に戻される。この検出器26は、光信号を信号処理システム25による一変量処理のための電気形の信号に変換する。アナログ方式、又はディジタル方式の処理システム25は検出信号を処理して検体濃度を表す情報を導き出す。検体の濃度は表示装置28によって目視可能に表示される。

上に述べた何れの位相－変調検出モードもセンサ装置10によって実施することが出来、検体濃度を導き出すことが可能である。これらに位相－変調モードはシングル又はマルチステートインジケータ成分を使用して実施することが出来る。もし、マルチステートシステムを利用すれば、内部又は外部参照技術用の何れかに構成することが出来る。

信号処理システム25は、監視されたパラメータ（即ち、位相シフト、周波数又は復調率）と検体濃度間の予想される関係を特徴付ける校正情報を記憶するメモリー（別に図示せず）を備えているのが好ましい。マイクロプロセッサ型又はその他のディジタル信号処理システム25を具備したセンサ装置10では、監視されたパラメータを、検体濃度に機能的に関係付ける式を記述するディジタル情報として校正情報を記憶することが可能である。この様な処理システム25では、監視されたパラメータが決まると、検体濃度を得るように式が解かれる。また、これに代わるものとして、処理システム25は監視された複数のパラメータ点と、それに関連する検体濃度を記憶した参照表を備えることも可能である。この種の処理システム25では、監視されたパラメータが決まると、それに関連した検体濃度は、参照表の最も近い２点から補間によって決定される。この種の計測処理システムは一般に知られている。

単一点再校正の間、センサ素子は既知の検体濃度を持つ校正体に曝されるか、又は監視される検体の濃度が代わりの技術を使用して測定される。処理システム25に連結されるノブ又はキーパッド（図示せず）等のインタフェースを用いて、オペレーターは既知の検体濃度を表す情報を入力する。本発明に従って操作する時、プロセッサは、表示装置28が既知の検体濃度に等しい読みを出力するように、監視されたパラメータと検体濃度間の関係の切片（勾配ではない）が変わるよう、記憶された校正情報を修正する。これによって、センサ装置10は再校正され、装置の動作範囲にある全ての濃度に対し正確な濃度を与える測定を可能にする。この様な仕方で校正情報の切片（勾配ではない）を修正できる処理システムは、公知の技術を利用して操作することができる。

好適実施例では、信号処理システム25は検出励起信号を実時間で一変量処理し、監視されたパラメータを導き出す。例えば、一定変調周波数モード１及び２を実行するためのこの種の信号処理システムは、位相シフト又は復調率情報をそれぞれ検出発光信号から導き出す。検体濃度の関数として位相シフト又は復調率を特徴付ける記憶校正情報は、それぞれ導出された位相シフト又は復調率の関数として、検体濃度を得るためにアクセスされる。インジケータ成分の寿命は、この一変量処理技術適用の間には、直接的にも、また間接的にも計算されることはない。

本発明の研究開発は、励起及び信号処理システムとして、325nmHeCdレーザと共に、市販のSLM－Aminoco社製SLM 48000MHFフーリエ変換スペクトロ蛍光測定器を使用して行われた。幾つかの実験では、364nmアルゴンイオンレーザも使用した。この装置は、単一固定変調周波数又は多重周波数バーストの何れかを出力するように構成された。位相シフトそして／又は復調率（即ちモード１及び２のデータ）を表す情報はシングルモード周波数を出力するように構成された装置によって直接得られた。多重周波数バーストを発生するように構成された装置によってテストを行う場合、装置から出力されるデータはディジタル化されて、コンピュータに掛けられる。次いで、このデータは市販の高速フーリエ変換ソフトウェアを使用して処理され、多重変調周波数の各々に於ける位相及び復調データが決定される。ツーステートシステムに関しては、異なる波長の信号を分離するのに光ファイバを使用することが出来る。また、この装置は一定位相モータト３をエミュレートする仕方

で作動させることが出来る。与えられた位相シフトを得るのに必要な周波数は補間法によって決定する。
実験中、第２図の参照番号16で示すタイプのセンサ素子はガスサンプル（例えば、酸素と、既知の濃度の二酸化炭素又は窒素の混合物）を入れたチャンバーに挿入した。センサ素子の他の実験的実施例（図示せず）では、マトリックスとして効果的に機能する溶液中に蛍光発光性インジケータを分散させた。これらの発光性インジケータ溶液は、サーモスタットで温度制御したキュウベット（浅い水鉢）に保持した。別の光ファイバ（図示せず）を使用して励起信号とサンプルチャンバーを連結すると共に、このサンプルチャンバーから戻ってくる発光信号を検出器に連結した。
また、本発明の研究開発には第３図に示すヘテロダインシステムも利用した。この第３図に図示のシステムは、周波数ｆで変調信号を出力する励起周波数発生器30を具備している。変調信号は、レーザ34から供給さる光励起信号を変調するために、電気光学変調器36（例えば、ポッケルスセル）及び分極性ビームスプリッタ35に連結される。一実施例では、レーザ34は325nm波長のHeCdレーザである。発光ダイオード又は周波数２倍レーザダイオードを使用することも可能である。変調励起信号は、ビームスプリッタ35と、分岐光ファイバ37によってセンサ素子16に送られる。センサ素子16が受けた光発光信号は、そこから光学フィルタホイール39を介して検出器38に印加される。センサ素子がツーステイトシステムとして動作するように構成され、且つ時分割多重方式で各発光信号を検出できる場合には、フィルタホイール39はセンサ素子16から来る発光信号を第１及び第２の発光信号に分ける。検出器38は光電子増倍管、アバランシェホトダイオード、又はマイクロチャンネルプレートであっても良い。検出された発光信号はミキサ42に適用される前にRF増幅器40によって増幅される。
第３図に示す装置の実施例は、変調周波数とΔｆだけ異なる信号を発生する周波数発生器44を備えている。この周波数発生器44によって作られる信号はミキサ46によって混合され、周波数Δｆに於けるヘテロダイン基準信号を形成する。また、周波数発生器44によって発生された信号は、検出され、且つ増幅された発光信号とミキサ42によって混合される。復調発光信号はオーディオ増幅器48によって増幅され、更に帯域フィルタ50によって濾過され、S/N比を増加させて不所望の周波数成分を除去する。
第３図に示す装置の一実施例では、励起周波数発生装置30は2.00MHzの変調信号を発生し、周波数発生器44は2.01MHzのヘテロダイン信号を発生する。これによって、検出器38から出力される2.00MHzの検出発光信号は、ミキサ42に於いて、4.01MHz及び10KHzに周波数シフトされる。10KHz信号以外の全ての周波数成分は帯域フィルタによって濾過される。同様に、10KHzに於ける周波数信号はミキサ46から出力される。帯域フィルタからの検出発光信号と、ミキサ46からの信号はディジタイザ52によってディジタル化され、信号処理装置54に加えられる。一実施例では、この信号処理装置54は、ミキサ46からの基準信号に対する発光信号の位相シフト及び復調率を導出するソフトウェアを具備したパーソナルコンピュータである。
以下の例は、本発明のある種の形態を非限定的に示す例である。特に断らない限り、部分量及び百分率は全て重量部及び重量百分率を示し、ミリメータ単位で示された分圧は、水銀柱のミリメータ表示によるものである。

具体例

例　１

この例は、二つの別個の発光寿命が検出発光信号を特徴付けている場合に於ける本発明の改良された性能を示す例である。励起及び信号処理システムとして分光蛍光計を、そして単量体インジケータ成分のためのマトリックスとしてヘキサン（$ak_q = 6.1x10^5 mm^{-1} sec^{-1}$）を用い、benzo［g,h,i］perylene（以下BPと言う；τ_0 ＝93nsec）、vinylbenzo［g,h,i］peryline（以下VBPと言う；τ_0 ＝35nsec）及びこれら二つの単量体成分のほぼ50:50の混合物の希釈溶液をサーモスタット制御のキューベット（温度298Kに保持）内に保持し、それらをアルゴンイオンレーザによる364nm単色光励起を用いて励起した。発光は、400nmのロングパスイクジット（long pass exit）フィルタを用いて監視した。外部基準とし

てエタノール中の1,4－Bis（４－methyl－５－phenyloxazol－２－yl）benzene（以下Me_2POPOPと言う；τ_0＝1.45nsec）を使用した。これらの溶液を以下の組成を持つ窒素と酸素の混合物に曝した（酸素％＝0.0,5.22,10.25,15.11、及び空気）。酸素O_2の分圧及び変調周波数の関数として測定されたBP,VBP及びBPとVBPの混合物に対する位相シフト及び復調率は、表1a,1b,1c,1d,1e、及び1fに示す。測定した位相シフトのデータは、小数点二桁の精度で丸め処理をした。測定した復調率のデータは、小数点三桁の精度で丸め処理をした。

表　１ａ

位相シフト（度)--(BP; τ_0 = 93nsec)

%O_2	変調周波数(MHz)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
0	69.75	77.65	79.69	80.66	81.00	81.66	82.87	82.78	83.47	83.49
5.22	40.19	58.09	65.99	70.01	72.64	74.54	75.89	77.09	77.85	78.35
10.25	29.87	48.16	58.05	63.64	67.28	69.91	72.00	73.51	75.00	75.98
15.11	22.30	39.01	49.80	56.66	61.44	64.83	67.50	69.45	71.42	72.74
20.95	18.00	32.56	43.07	50.54	55.91	59.99	63.06	65.53	67.64	69.44

表　１ｂ

復調率 --(BP; τ_0 = 93nsec)

%O_2	変調周波数(MHz)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
0	0.325	0.170	0.118	0.090	0.073	0.063	0.054	0.048	0.043	0.039
5.22	0.750	0.498	0.362	0.284	0.234	0.199	0.173	0.154	0.137	0.126
10.25	0.852	0.640	0.490	0.394	0.328	0.282	0.248	0.220	0.198	0.180
15.11	0.918	0.761	0.620	0.513	0.436	0.377	0.334	0.299	0.269	0.246
20.95	0.949	0.833	0.710	0.606	0.523	0.460	0.408	0.367	0.334	0.305

表 1 c

位相シフト（度)--(VBP ; τ_0 = 35nsec)

%O_2	変調周波数(MHz)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
0	45.19	62.99	70.62	74.50	77.29	78.98	80.37	81.03	81.84	82.21
5.22	28.30	46.87	57.52	63.94	68.29	71.22	73.49	75.20	76.49	77.45
10.25	21.37	37.73	49.08	56.44	61.82	65.65	68.42	70.68	72.47	74.01
15.11	17.21	31.47	42.42	50.32	56.12	60.55	63.84	66.63	68.69	70.58
20.95	13.90	26.21	36.31	44.01	50.16	54.93	58.68	61.81	64.26	66.46

表 1 d

復調率 -- (VBP ; τ_0 = 35nsec)

%O_2	変調周波数(MHz)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
0	0.667	0.421	0.299	0.231	0.188	0.158	0.135	0.119	0.107	0.096
5.22	0.873	0.673	0.522	0.419	0.348	0.296	0.258	0.228	0.205	0.186
10.25	0.924	0.778	0.640	0.533	0.452	0.390	0.344	0.305	0.275	0.250
15.11	0.953	0.847	0.730	0.626	0.542	0.474	0.421	0.377	0.341	0.311
20.95	0.969	0.896	0.802	0.709	0.628	0.559	0.502	0.454	0.414	0.379

表 1 e

位相シフト（度)-- (BP + VBP 混合物)

%O_2	変調周波数(MHz)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
0	60.40	71.02	74.67	76.81	77.95	79.24	80.18	81.13	81.68	81.74
5.22	36.64	53.68	62.25	66.86	70.25	72.21	73.85	75.05	76.64	77.63
10.25	26.00	42.98	53.01	59.47	63.80	67.10	69.62	71.60	72.92	73.85
15.11	20.75	36.43	47.12	54.22	59.23	62.96	65.62	67.85	69.77	71.19
20.95	16.16	29.93	40.04	47.52	52.87	57.40	60.67	63.34	65.68	67.61

表 1 f

復調率 -- (BP + VBP 混合物)

%O_2	変調周波数(MHz)									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
0	0.371	0.214	0.152	0.117	0.095	0.082	0.070	0.062	0.055	0.050
5.22	0.785	0.547	0.409	0.324	0.268	0.230	0.200	0.179	0.161	0.145
10.25	0.887	0.701	0.558	0.458	0.386	0.332	0.291	0.261	0.233	0.212
15.11	0.927	0.783	0.650	0.545	0.466	0.406	0.359	0.322	0.291	0.265
20.95	0.970	0.868	0.757	0.658	0.576	0.508	0.454	0.409	0.372	0.342

変調周波数を5MHz及び30MHzとした時のBP及びVBPに関して測定した位相シフト及び復調率を、酸素O_2の分圧の関数として第４図及び第５図に示す。これら二種類の溶液に関する対応プロットは、$\tau_0/\tau = [[1/(m_0^2-1)]/[1/(m^2-1)]]^{1/2}$による5MHzの復調率から決定し、第６図にグラフとして示した。実験データを数学的に直線に合わせる（例えば、最小二乗法）ことはしなかった。代わりに、各溶液に於ける相隣る実験点を直線で結んで明示した。例えば、第６図に於いて、結び合わせたデータの点は、全体としては直線的だが、多少ギザギザした線を描いている。第４図から第６図に示したグラフに於いて、黒四角を通る破線は5MHzに於けるBPに対応し、白四角を通る破線は30MHzに於けるBPに対応する。同様に、黒四角を通る実線は5MHzに於けるVBPに対応し、白四角を通る実線は30MHzに於けるVBPに対応する。

BPとVBPに関するStern－Volmer勾配の違いに注目されたい。この違いは、これら二つの染料の寿命τ_0の違いから来るものである。同様に、両染料に対する5MHzの位相及び復調プロットは曲線的で、平行ではなく、一般式である$\tan\Theta = \omega\tau$及び$m = (1+\omega^2\tau^2)^{-1/2}$と一致しない。ここでτはStern－Volmerの式$\tau_0/\tau = 1 + k_q\tau[O_2]$によって定義される。この周波数5MHzのデータは従来技術で知られている従来方法による装置の動作を示している。VBPに対しては、40～120mm水銀柱の臨床酸素分圧範囲に関して、$\omega\tau_0 = 1.1, [[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]] = 0.72\sim1.27, k_q\tau_0[Q] = 0.85\sim2.56$である。BPに対しては、$\omega\tau_0 = 2.9, [[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]] = 2.47\sim3.75, k_q\tau_0[Q] = 2.27\sim6.81$である。

周波数30MHzに於いて、装置は式１の関係で動作する。この時、VBPに対しては、$\omega\tau_0 = 6.6, [[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]] = 16.3\sim8.2, k_q\tau_0[Q] = 0.85\sim2.56$である。BPに対しては、$\omega\tau_0 = 17.4, [[(k_q[Q])^2+\omega^2]\tau_0^2]/[1+2k_q\tau_0[Q]] = 56.4\sim24.2, k_q\tau_0[Q] = 2.27\sim6.81$である。これに関連する校正プロットは、$\tau_0$の違いにも拘わらず本質的には直線で、且つ平行となる。

位相シフト及び復調率は以下に示すようにτ_0, ak_q、及び$[O_2]$に依存する。即ち、

$$\Theta = \tan^{-1}(2\pi f\tau) = \tan^{-1}(2\pi f\tau_0/(1+ak_q\tau_0[O_2]))$$

及び

$$m = [1+(2\pi f\tau)^2]^{-1/2} = [1+(2\pi f\tau_0/(1+ak_q\tau_0[O_2]))^2]^{-1/2}$$

ここで、P_{O2}に関してΘ及びmの一次微分を取れば、一般式は：

$$d\Theta/dP_{O2} = -\omega\tau_0^2 ak_q/\{1+2ak_q\tau_0P_{O2}+(ak_q\tau_0P_{O2})^2+(\omega\tau_0)^2\}$$

$$dm/dP_{O2} = \omega^2\tau_0^3 ak_q/\{1+2ak_q\tau_0P_{O2}+(ak_q\tau_0P_{O2})^2+(\omega\tau_0)^2\}^{3/2}$$

式１の条件が満足されれば、これらの式はτ_0に関して独立となり、
$d\Theta/dP_{02} = -\omega ak_q/\{(ak_qP_{02})^2 + (\omega)^2\}$
$dm/dP_{02} = \omega^2 ak_q/\{(ak_qP_{02})^2 + (\omega)^2\}^{3/2}$
となる。更に、$\omega \gg ak_qP_{02}$であれば、$d\Theta/dP_{02} \quad -ak_q/\omega$、$dm/dP_{02} \quad ak_q/\omega$となる。この場合、$P_{02}$への線形依存性が得られる。周波数30MHzにおける平行プロットは両染料に関してk_qが同じであることを示している。40～120mmと言う範囲にある生理学上の酸素分圧（即ち、対象範囲）以下の小さな酸素分圧に於いて、VBPプロットに平行直線的振る舞いからの逸脱を起こさせるVBPに対する$\omega\tau_0$はわずか6.6であることに注意されたい。プロットが直線となる領域に於いて、$\Theta \quad \{\pi/2-1/\omega\tau_0 - ak_qP_{02}/\omega\}$、$m \quad \{1/\omega\tau_0 + ak_qP_{02}/\omega\}$であり、切片への$\tau_0$の依存性がはっきりと確証される。

二種類の染料による50:50比の混合物に対する周波数30MHzでの校正プロットは直線であることが分かった。この校正プロットを、純成分に対する校正プロットにほぼ等しい勾配、及び純成分に対する校正プロット間の切片と共に第７図に示す。第７図に用いた表示規則は第４図から第６図のものと同じである。尚、黒四角を通る中間の鎖線は、周波数5MHzに於ける混合物に対応し、白四角を通る中間の鎖線は、周波数30MHzに於ける混合物に対応している。

もし、93nsec及び35nsec寿命のインジケータの混合物が同一センサ中に存在し、且つ、特定の相互作用が生じなければ、測定された位相シフトと復調率は、個々の成分に対する位相角によって以下のように定義することが出来る。即ち：

$\tan\langle\Theta\rangle = N/D$
$m = [N^2 + D^2]^{1/2}$
$N = \Sigma f_i \sin\Theta_i \cos\Theta_i$
$D = \Sigma f_i \cos^2\Theta_i$
$f_i = (\alpha_i I_i/I_{0i}) / (\alpha_i I_{0i})$

ここで、Θ_iは個々の発光体成分に対する位相シフト、f_iは測定した全蛍光発光に対する各発光体の酸素依存性の寄与、そしてα_iはケンチャーQが無いときに測定した全蛍光発光に対する各発光体の寄与を示す。

低い作動周波数5MHzに於いては、混合物は個々の成分の勾配から実質的に偏倚した校正勾配を生ずるが、30MHzの高い作動周波数では、その勾配偏倚の現れ方はずっと少なくなる。3mmの精度を維持し、100mmでの一点再校正をするとなると、約５％の勾配精度が必要となる。

作動周波数5MHz及び20MHzに於けるBP,VBP、及びそれらの50:50混合物の希釈ヘキサン溶液に対する位相シフトの測定結果を第８図に示す。黒四角を通る線は5MHz時のデータを示し、白四角を通る線は20MHz時のデータである。20MHzに於いて、装置は本質的に式１の条件内で動作する。20MHz時のVBPに対して、$\omega\tau_0 = 4.4, [[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 7.4 \sim 4.2, k_q\tau_0[Q] = 0.85 \sim 2.56$である。20MHz時のBPに対しては、$\omega\tau_0 = 11.7, [[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 25.6 \sim 12.5, k_q\tau_0[Q] = 2.27 \sim 6.81$である。直線性に欠けるが、全てのプロットは同様の勾配を有している。

例　２

例１で述べた計測手段、VBP及びBPインジケータ溶液を使用し、例１で述べた酸素と窒素の混合物に露出させ、５～125MHzの範囲にある幾つかの変調周波数に於いて、多重調和フーリエ（MHF）並列捕捉法（Multiharmonic Fourier（MHF）Parallelacquisition）を使用して酸素分圧の関数として位相シフトを決定した。各酸素濃度に於いて70°の一定位相シフトを与える変調周波数は補間によって決定した。第９図は周波数vs酸素濃度（即ち、位相－変調モード３）の関係を示すグラフであった、個々の成分及びその混合物の両者に関して、直線的振る舞いと、一定の勾配が示されている。

例　３

この例で使用したセンサ素子は、分子内エクシマー形成分子である$2x10^{-5}$M1,3－bis（１－pyrenyl）propaneを含むジメチルシロキサン（dimethylsiloxane）フィルムを含んでい

る。このフィルムは次のようにして用意した：ビニールターミネイテッドシロキサン（vinyl terminated siloxane）（Petrarch Systems社発売、商標PS441）0.50gに、ポリメチルヒドロシロキサン（polymethylhydrosiloxane）（Petrarch Systems社発売、商標PS123）0.05g,1,3－bis（１－pyrenyl）propaneの$9x10^{-5}$M CH2C12溶液0.50ml、及び白金触媒溶液10μlit.を加え、空気中で乾燥し、次いで真空乾燥した。ここで用いた白金触媒溶液はヘキサン中のkarsted's触媒溶液である。

このセンサ素子を用いた位相－変調モード１に於ける実験は、SLM 48000単一周波数捕捉式周波数領域蛍光測定器（Frequency－Domain Fluorometer with single frequency acquisition）を用いて実施した。検出フィルムは、励起及び発光検出を同一線上で行う光ファイバ用ポート、及び急激なガス交換を行うためのポートを備えた、サーモスタット温度制御の光学的に隔離したチャンバー内に設置した。光ファイバーポートは、末端光ファイバの端末が励起と発光収集を行うため、散乱を最小限にするようにフィルム表面から45度の角度で配置した。フィルムはHeCdレーザから供給される327nmの単色光で励起した。標準モノクロメータを使用して、エクシマー発光に対し500nmの発光波長、及び単量体発光に対し375nmの発光波長を連続的に選択した。検出フィルムは以下の組成（酸素体積％＝0.0,5.09,10.35,15.37）を持つ酸素と窒素の混合物に露出させた。

単量体及びエクシマー両者の発光に関する位相シフトを、1,3,5,10,20,30、及び50MHzに於ける単一周波数測定から求め、各部標準としてのMe_2POPOPに対する位相シフトと照合した。単量体とエクシマー両者発光間の位相差を、酸素体積％及び変調周波数の関数として表3aに示す。

表　３ａ

O_2センサに関する$\Delta\Theta = \Theta_{excimer} - \Theta_{monomer1}$

$\%O_2$	変調周波数（MHz）						
	1	3	5	10	20	30	50
0.00	19.1	46.0	59.9	74.0	81.8	84.5	86.7
5.09	14.8	38.4	52.8	69.3	79.3	82.8	85.7
10.35	11.7	31.9	46.0	64.3	76.4	80.9	84.5
15.37	10.0	27.8	41.3	60.7	74.1	79.3	83.5

酸素体積％ 0.0％の時の位相シフトの差、及び$\tan(\Delta\Theta)=\omega\tau$の関係を用いて、エクシマーのインパルス応答機能を特徴付けるτ_0は、変調周波数には独立に（以下の表３ｂ参照）約55nsecと計算される。

表　3 b

変調周波数(MHz)	τ_0	K_{sv}*	ak_q **
1	55.1	8.31	1.51
3	54.9	8.27	1.51
5	54.9	8.28	1.51
10	55.5	8.31	1.50
20	55.2	8.41	1.52
30	55.1	8.27	1.50
50	55.2	8.36	1.51

表中、

K_{sv}* ：$\tan(\Delta\Theta)_0/\tan(\Delta\Theta)$ vs酸素分圧（mm）の勾配（mm^{-1} x 10^3）

ak_q **：K_{sv}/τ_0 （mm^{-1} sec^{-1} x 10^{-5}）

エクシマー形成システムのこれらの属性は、位相シフトの差に基づいてエクシマーに対して純粋なStern－Volmerのケンチング行動を起こす。第10図は1MHzの変調周波数で収集したデータに関してこのことを示している。Stern－Volmerの関係は$\tau_0/\tau = 1 - 2k_q\tau_0P_{02} = \tan(\Delta\Theta)_0/\tan(\Delta\Theta)$であり、ここで$k_q$は二分子ケンチング率定数、aはシリコーン中の酸素の溶解度、P_{02}は被検出媒体中の酸素分圧である。Stern－Volmer勾配、$K_{SV} = ak_q\tau_0$、は各変調周波数に対して実験的に求めた（表3b）。K_{SV}とτ_0の値からak_qを約$1.51x10^5 mm^{-1}sec^{-1}$と定めた。この量は高周波に於けるΔΘvs酸素の校正プロットの振る舞いを以下に評価するのに使用する。

第11図は、位相シフト差、ΔΘ、を変調周波数3MHz及び20MHzに於ける酸素分圧の関数として示す。黒四角を通る3MHzに於ける位相プロットは、カーブして一般式$\Delta\Theta = \omega\tau = \omega\tau_0/(1 + k_q\tau_0aP_{02})$に一致する。$\tau_0$の変化は平行ではない曲線群を生じさせる。この周波数3MHzに対応する線は、式１の条件外にあるセンサの動作を示しており、周波数3MHz、P_{02}＝40～120mmに於けるこのインジケータ成分に対して、$\omega\tau_0 = 1.04$, $[[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 0.71 \sim 0.69$, $k_q\tau_0[Q] = 0.33 \sim 1.00$である。

白四角を通る20MHzに於ける対応プロットは直線である。この周波数の時、$\omega\tau_0 = 6.91$, $[[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 28.8 \sim 16.3$, $k_q\tau_0[Q] = 0.33 \sim 1.00$である。例１のように、$\Delta\Theta \quad \{(\pi/2) - (1/\omega\tau_0) - (ak_qP_{02}/\omega)\}$。従って、Stern－Volmer勾配の様ではなくτ_0の変化に対し独立である。前述の値$ak_q = 1.51x10^5 mm^{-1}sec^{-1}$を使用すれば、理論的勾配$ak_q/\omega = -0.0688deg/mm$は、実験で得た勾配－0.0686deg/mmと良い一致を見せ、それ故、高周波の限界に於ける式の形を確認できる。20,30、及び50MHzに於ける校正勾配の比較によって、勾配の変調周波数に対する逆依存性が確認される。

例　４

第12図は、シリコーンラバーマトリックス中の単量体インジケータ成分benzo [g,h,i] perylene（BP;τ_0＝93nsec）、及びvinylebenzo [g,h,i] perylene（VBP;τ_0＝35nsec）、並びに、これら単量体インジケータ成分の50:50混合物に関する幾つかの校正データセットを示す。これらのシミュレーションは、実験的に導いたτ_0の値（例１から）及びak_qの値（例３の$1.51x10^5 mm^{-1}sec^{-1}$）を基にしている。3MHzで変調した励起信号による励起

では、35nsecのインジケータ成分に対しては、$\omega\tau_0$　0.66となり、93nsecのインジケータ成分に対しては、$\omega\tau_0$　1.76となる。各データセットは、測定された位相シフトΘと酸素濃度（分圧）との間の関係を特徴付ける。第13図は、位相－変調モード２（酸素濃度の関数としての復調率ｍ）に於ける同一センサに関してシミュレートした校正データセットのグラフである。従来の変調周波数（即ち、$\omega\tau$　１）を用いると、これらセンサに関する酸素分圧の関数としての位相シフト及び復調率の校正データは、第12図及び第13図に示すように、良くない振る舞いを示す。これらの場合、変調周波数3MHzに選んだのは、τ_0＝93nsecのセンサに関して生理学的な酸素分圧の中点（90mm）に於いて最大の位相精度を与えるためである。しかし、より高い周波数（第12,13図の20MHzデータ）では、これら校正プロットの勾配はτ_0の変動性及び異種性に関して独立となる。

例　５

Wolfbeisはその著書の中で、環状式芳香族炭化水素（polycyclic aromatic hydrocarbon）（PAH）をシリコーンラバー中に分散させるか、共有結合的に配列させた一般の酸素センサについて、ある程度詳しく述べている。この材料に於いて、酸素の溶解度ａと、拡散制御された二分子ケンチング率定数K_qとの積は、約$1.5\times10^5 mm^{-1}sec^{-1}$である。この様なセンサ素子中の典型的なPAH発光体に関する励起状態寿命は、典型的にはτ_0が20～100nsecで変化し、Stern－Volmerの勾配ＫはＫ＝$ak_q\tau_0$＝0.003～0.015mm^{-1}である。第14図は、上述の酸素センサ素子に関する蛍光発光寿命vs酸素分圧のStern－Volmerプロットを示し、そこではτ_0は35nsec又は93nsecである。この場合、ポリマーマトリックス中の酸素の溶解度及び拡散率は、センサが対象の検体濃度範囲に関し良好な対応感度を有するようにする。酸素溶解度及び拡散率がもっと大きい長寿命染料、又はポリマーマトリックスホストに関しては、Stern－Volmerケンチング定数は、過剰に高くなる。例えば、第15図は$1.5\times10^5 mm^{-1}sec^{-1}$から$9.5\times10^5 mm^{-1}sec^{-1}$まで6.3倍も$ak_q$を増加させる効果を示している（例えば、異なるマトリックスにPAHインジケータ成分を分散させることによって）。特に、第15図はτ_0＝93nsecの時のこの効果を示している。もし、Stern－Volmerのケンチング定数が過剰に高くなると、水銀柱40～120mmの臨床範囲に関して振幅感度が減少する。この感度減少を従来の方法、即ち、Mauzeが示した方法に従って克服するために、τ_0,a、又はk_qを減少させるように発光体、又はマトリックスポリマーの性質を修正することが出来る。対象の検体濃度範囲でより望ましい感度を実現するために、Stern－Volmerのケンチング定数、Ｋ、はセンサ素子の化学組成を修正することによって減少させることが出来る。

上記の従来方法とは対照的に、この例では高いStern－Volmerケンチング定数と高い変調周波数との組み合わせによって、検体には感応するが、τ_0の異種性には影響されない校正勾配を与える例を示す。第16図及び第17図は、前述の例１で述べた単量体インジケータ成分、即ちVBP（τ_0＝35nsec）及びBP（τ_0＝93nsec）、及びこれら単量体インジケータ成分の50:50混合物に関する位相シフトvs酸素分圧及び復調率vs酸素分圧の計算された校正データをそれぞれ示すグラフである。従来方法とは対照的に、Stern－Volmerケンチング定数は$ak_q=9.5\times10^5 mm^{-1}sec^{-1}$となるように酸素の溶解度及び拡散率を増加させることによって増加させた。第16図及び第17図は例１で述べた測定データから計算されたデータポイントを用いたシミュレーションではあるが、ak_qのほぼこの値を持つセンサ素子は、例えば、単量体インジケータ成分VBP及びBPをtrimethylsily lpropyneマトリックスに分散させることによって得ることが出来る。更にまた、従来方法とは対照的に、変調周波数を3MHzから45MHzに変化させることによって、積$\omega\tau_0$は実質的に増加する。それ故、第16図及び第17図に示す生理学的に関連する酸素分圧範囲で式１の条件は満足される。このセンサのVBPに対して、生理学的範囲40～120mmに於いては、$\omega\tau_0$＝9.9,［［（k_q［Q］）$^2+\omega^2$］τ_0^2］／［１＋$2k_q\tau_0$［Q］］＝27.2～12.7,$k_q\tau_0$［Q］＝1.33～4.00である。また、BPに対しては、$\omega\tau_0$＝26.3,［［（k_q［Q］）$^2+\omega^2$］τ_0^2］／［１＋$2k_q\tau_0$［Q］］＝87.3～36.2,$k_q\tau_0$［Q］＝3.53～10.60である。

例　６

この例もまた、例４で述べたインジケータ成分VBP,BP及びそれらの50:50混合物を、酸素

溶解度及び拡散率が$ak_q = 1.5x10^5 mm^{-1} sec^{-1}$であるシリコーンマトリックス中に分散させたものに関する計算に基づくシミュレーションである。シリコーンマトリックス中のこれらインジケータ成分の分散はこれらの特性を持つようになる。もし、位相シフトが$\Delta\Theta = 20°, 45°$、及び80°に於いて一定であるように変調周波数が変わることが可能ならば（位相－変調モード３）、単一τ_0によって特徴付けられる個々の発光体に関して以下に導かれる校正関係、$f = (\tan\Theta/2\pi)[1/\tau_0 + ak_q P_{02}]$に基づいて、第18図に示す校正プロットが得られる。

一つの寿命τ_0を持つ個々の発光体に関しては、校正曲線は直線となり、校正勾配はτ_0から独立となって、マトリックス依存性の定数ak_qにだけ依存する。第18図に於いて、それぞれ直線Ａ及びＢによって示すτ_0＝35nsec及びτ_0＝93nsecの単一発光体を有するセンサ素子に関する校正曲線は、同じ勾配を示す。もしセンサ素子がτ０に関して二つのモード分布を示さないことが保証されれば、そのときは直線的で、且つ一定の校正勾配が考えられ、単一点校正法が成り立つ。しかし、多くの場合、これらセンサ素子の蛍光寿命に関する振る舞いを十分に記述するためには、一つ以上のτ_0が要求される。この様な場合には、勾配と切片は変化する。しかし、本出願人は十分に大きい位相シフトを用いることによって、勾配はこのτ_0の違いに関して独立となり、単一点校正が可能になることを見出した。例えば、第18図は互いに相互作用を示さない二つの発光体、一つはτ_{01}＝35nsec、他の一つはτ_{02}＝93nsecの50:50混合物に関する結果を示している。線Ｂは位相シフトを80°とした時、線Ｃは位相シフト45°としたとき、そして線Ｄは位相シフト20°の時のそれぞれの結果を示す。位相シフトが20°から45°、更に80°へと変化すると、混合物に対する校正勾配はますます直線的になり、勾配は個々の成分の勾配に近づいていく。Θ＝45°に於いて校正勾配は個々の成分で得られたものに対して10%の差異を示している。Θ＝80°では、混合物に対する校正勾配は直線的となって、個々の成分と同じ勾配を持っている。この位相シフトは、対象の全酸素濃度に対して式１の動作条件を満足する十分に高い変調周波数を保証する。このセンサのVBPに対しては、生理学的範囲40～120mmに於いて、$\omega\tau_0 \geqq 5.9, [[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 24.8 \sim 34.3, k_q\tau_0[Q] = 0.211 \sim 0.634$である。また、BPに関しては、$\omega\tau_0 \geqq 15.8, [[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 117 \sim 126, k_q\tau_0[Q] = 0.56 \sim 1.69$である。

第18図に於いて、縦座標軸を「正規化周波数（MHz）」としていることに注意されたい。

一つのτ_0を持つ個々の発光体に対しては、

$$\tan\Theta = 2\pi f\tau = (2\pi f\tau_0)/(1 + ak_q\tau_0[O_2])$$

この式をｆについて解けば、

$f = ((1 + ak_q\tau_0[O_2]) / (2\pi f\tau_0))\tan\Theta$となる。

この等式の両辺に$2\pi/\tan\Theta$を掛ければ、

$2\pi f/\tan\Theta = 1/\tau_0 + ak_q\tau_0[O_2]$を得る。

この後者の式はStern－Volmerの形をしており、そこでは正規化周波数$2\pi f/\tan\Theta$は$1/\pi$に等しい。従って、個々の成分に関しては、$2\pi f/\tan\Theta$が$1/\pi$に等しくなる。

例　7

上記の例６で述べたのと同様の仕方で、もし、復調率が一定になるように変調周波数が変化することが可能であれば（位相－変調モード４）、第19図に示す種類の校正勾配が得られる。一つのτ_0によって特徴付けられる個々の発色団（chromophor）に対する校正関係は、$f = ((1/m)^2 - 1)^{1/2}[1 + ak_q\tau_0 P_{02}]$である。第19図に示すとおり、復調率が0.9（線Ｈ）から0.1（線Ｇ）まで変化するとき、混合物に対する校正勾配はますます直線的となり、勾配は個々の成分（線Ｆ及びＩ）の勾配に近づく。ｍ＝0.1に於いて、混合物に対する校正勾配は、ほぼ直線であり、個々の成分とほぼ同一の勾配を有している。この復調率は、対象の全酸素濃度に対して式１の動作条件を満足する十分に高い変調周波数を保証する。

第19図の「正規化周波数（MHz）」は、第18図に関して行ったと同様に導くことが可能であって、個々の成分に関しては、$(2\pi f)/((1/m)^2 - 1)^{1/2}$に等しいことに注意

されたい。

例　8

第20図及び第21図は、寿命350nsec及び930nsecを有する染料及びこれら染料の50:50混合物に関して、酸素分圧の関数として示した一定位相シフト40°（モード３）に於ける周波数の校正プロット、及び一定変調周波数10MHz（モード１）に於ける位相シフトの校正プロットである。第20図及び第21図に示すデータ線は、染料が$ak_q = 7.1x10^5 mm^{-1}$であるマトリックス中にあると仮定して、計算によってシュミレートしたものである。Mauze等による米国特許番号第5,057,277号に開示されている種類のルテニウム染料に、これらの比較的長い寿命を持たせることは可能である。これらの染料をtrimethylsilylpropyneマトリックス中に分散させ約$7.1x10^5 mm^{-1}$のak_qを達成することは可能である。寿命30nsecの染料に対して、$\omega\tau_0 = 22.0$, $[[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 27.91 \sim 22.65$, $k_q\tau_0[Q] = 9.94 \sim 29.82$である。また、寿命930nsecの染料にたいしては、$\omega\tau_0 = 58.4$, $[[(k_q[Q])^2 + \omega^2]\tau_0^2] / [1 + 2k_q\tau_0[Q]] = 76.3 \sim 60.8$, $k_q\tau_0[Q] = 26.4 \sim 79.2$である。この例は、式１の条件内に於けるセンサ装置の動作を示している。これらの比較的長い寿命の染料によっては、校正関係の切片は、勾配と同様τ_0の変動には影響を受けない。高拡散率のマトリックス内で、更に長い寿命の染料を使用することによって、切片がτ_0変動の影響をもっと受け難くすることさえ出来る。

第22図は、量$\omega\tau_0$及び$k_q[Q]$の関数として校正勾配（水銀柱40mmに於ける酸素分圧1mm当たりの位相シフト角度）を示す立体図である。好適な動作領域を示すために、ｚ軸に沿って一頂点を含んで切断した図である。この領域では、校正曲線の切片はτ_{0L}以上の全てのτ_0に対して独立であり、校正勾配もまたτ_{0L}以上の全てのτ_0に対して独立（即ち、式１を満足する）であって、更に校正勾配は大きい。校正曲線の切片は、$1/\pi \gg 1/\tau_0$の時、また更に定量的には、$1/\pi \gg 10(1/\tau_0)$の時にτ_0の変動の影響を受けなくなる。この条件は$k_q\tau_0[Q] > 9$の時に満足される。

結　論

式１の動作条件は、従来に無い高い変調周波数の使用に関しては、励起状態に於ける正確な寿命測定には相応しくないとしてきた。しかし、位相－変調モード１～４に示すように、寿命の明確な決定を避けることによって、これらの高い変調周波数は、従来方法ではStern－Volmerのケンチング定数が高過ぎると考えられるセンサ素子によっても正確な検体濃度測定を可能にしている。また、式１の条件下で動作させることによって、校正勾配及び校正勾配と切片との両者をτ_0の異種性から独立させることが出来る。

以上、本発明をその好適実施例を参照して述べてきたが、本発明の精神及び範囲を逸脱することなしに、その形態及び細部に関して変化が可能であることを当業者は認識すべきである。

【図１】

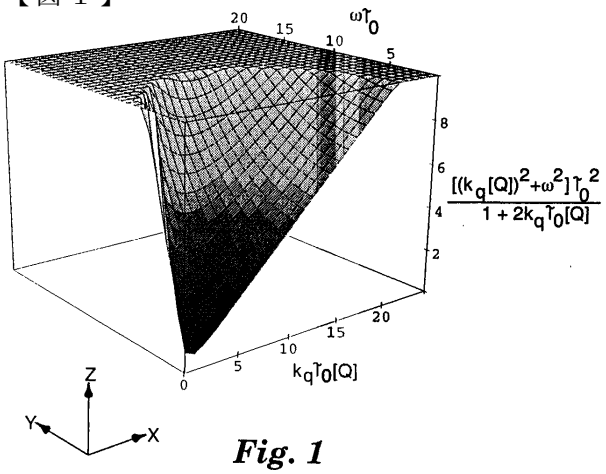

Fig. 1

【図２】

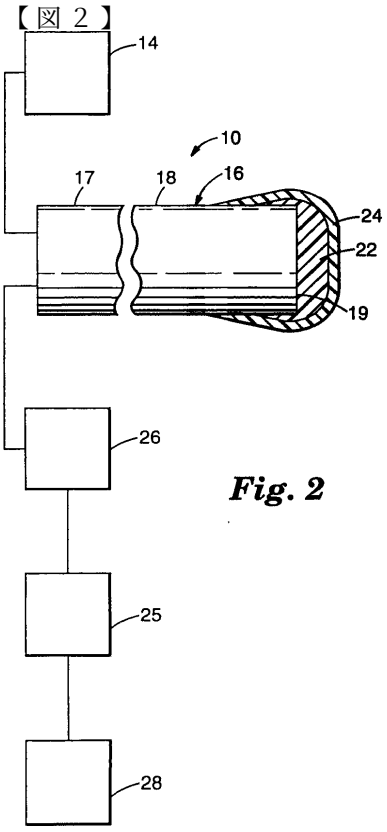

Fig. 2

【図３】

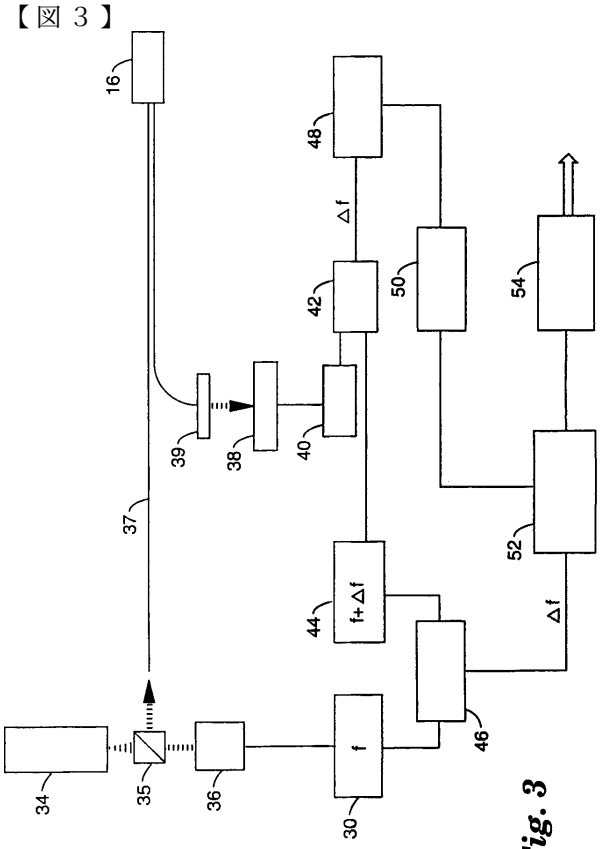

Fig. 3

【図４】

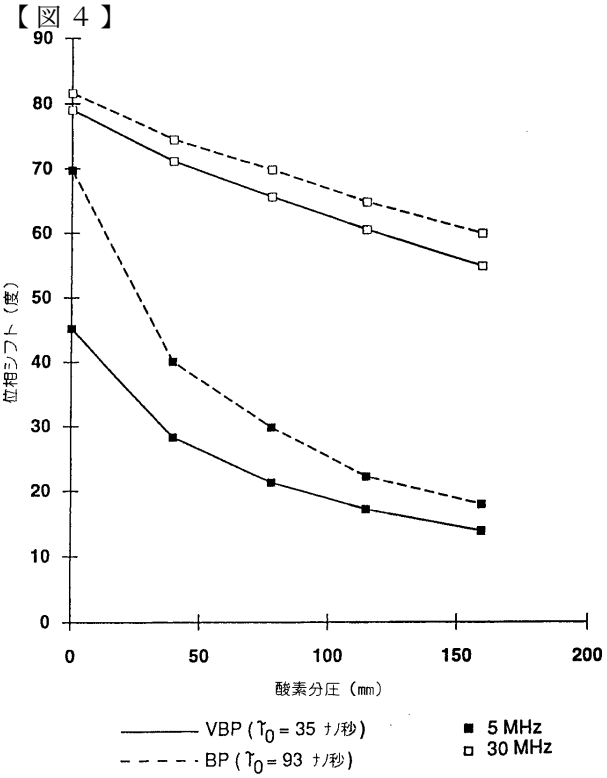

Fig. 4

【図５】

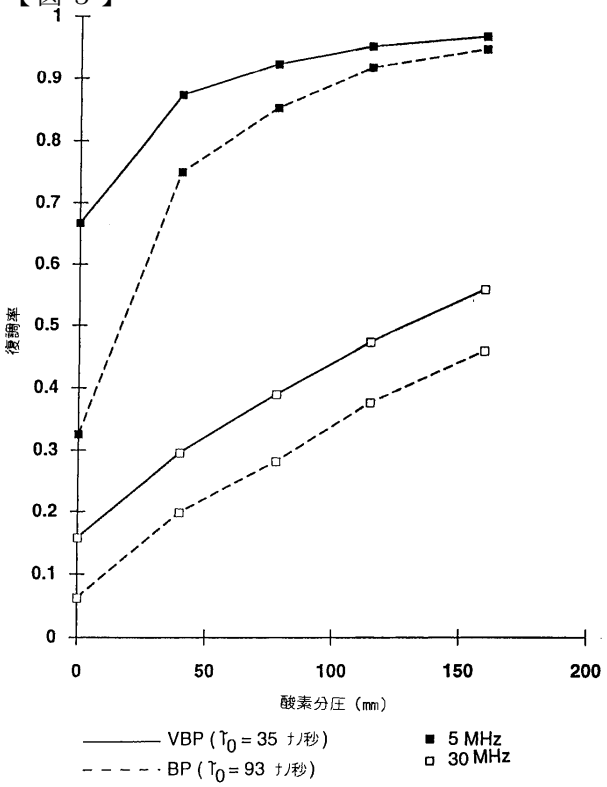

Fig. 5

【図６】

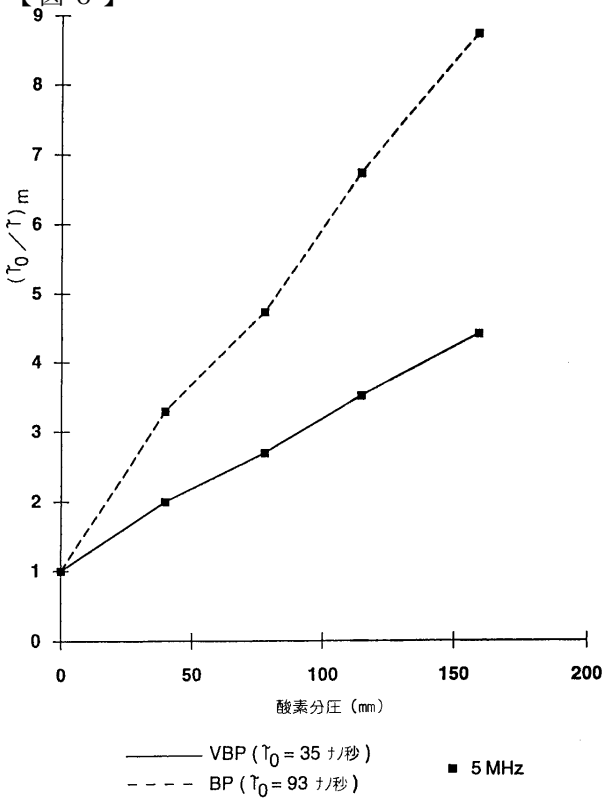

Fig. 6

【図７】

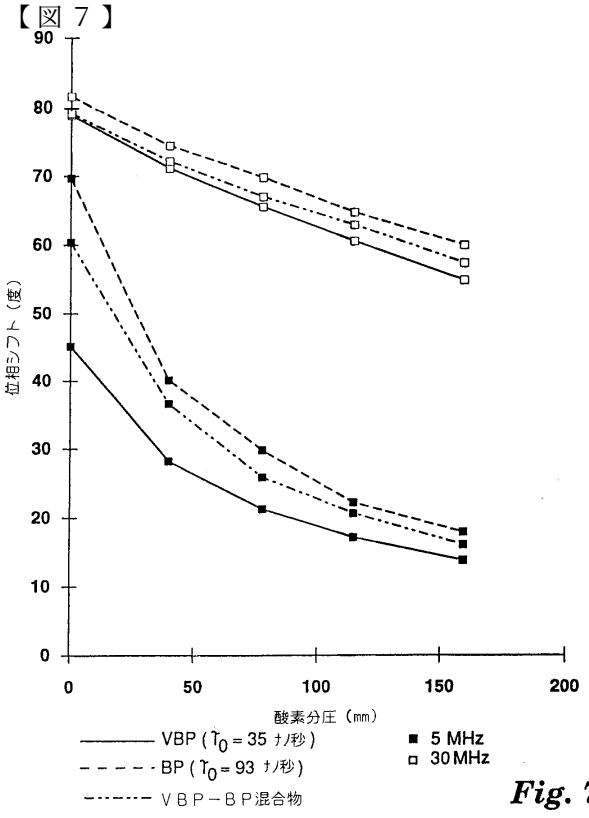

Fig. 7

【図８】

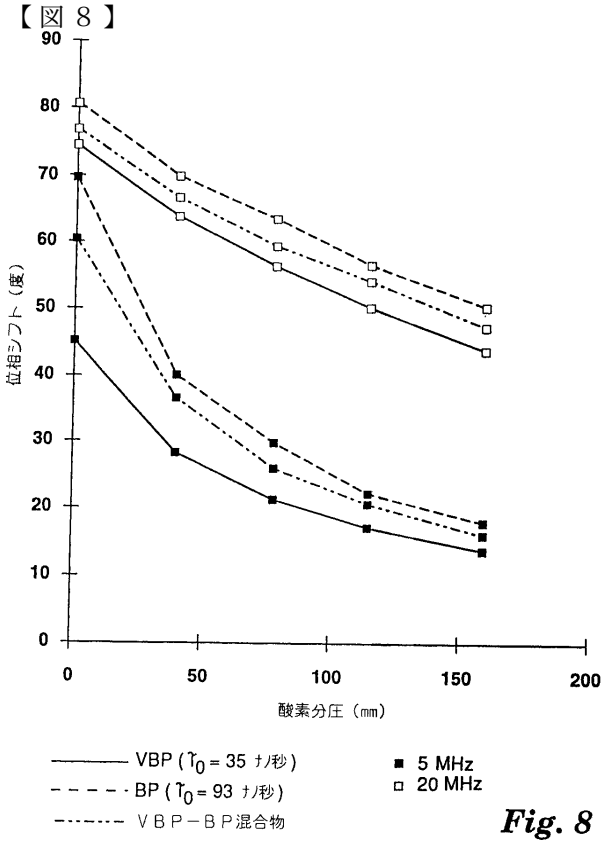

Fig. 8

【図９】

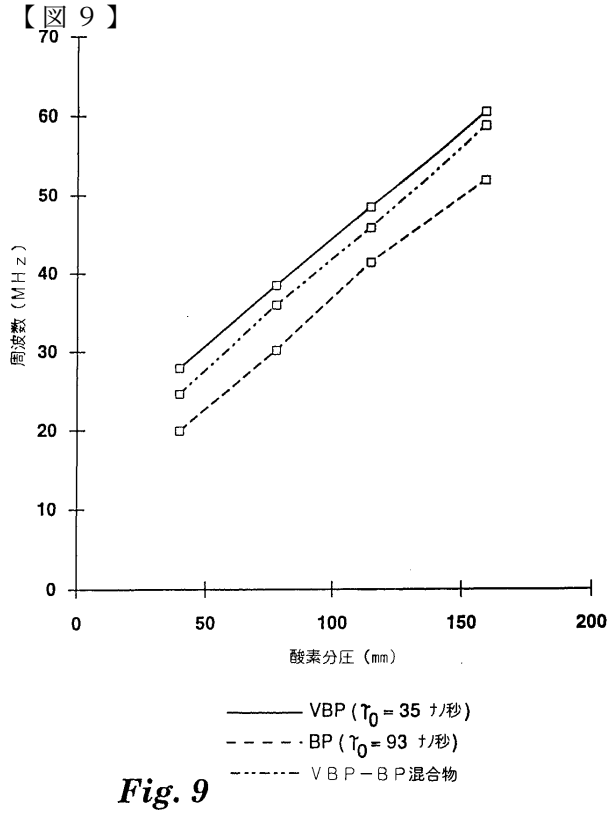

Fig. 9

【図１０】

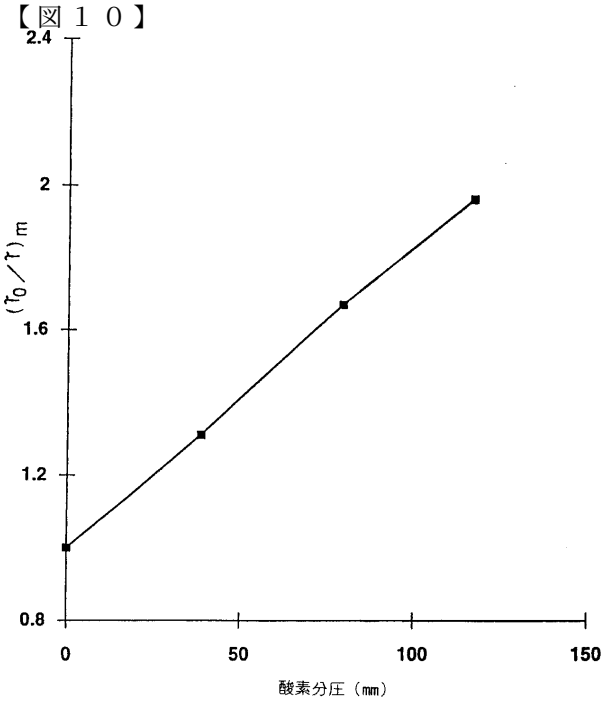

Fig. 10

【図１１】

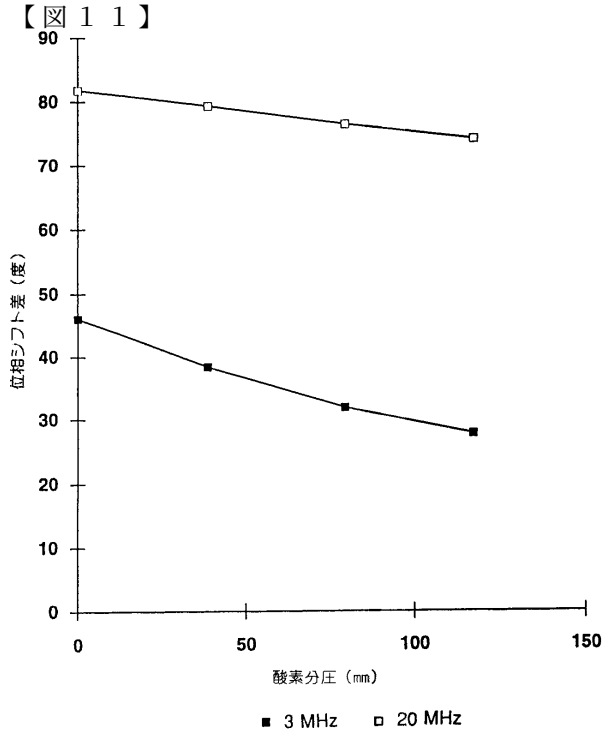

Fig. 11

【図１２】

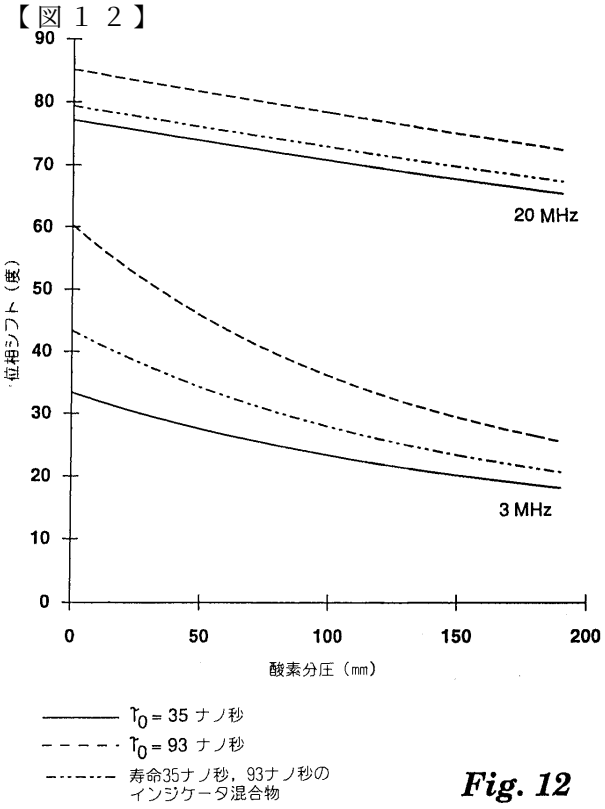

Fig. 12

【図１３】

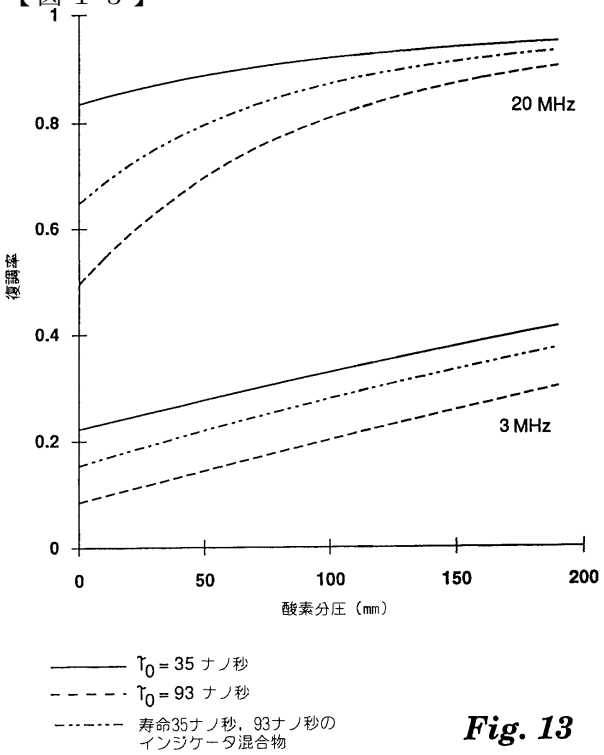

Fig. 13

【図１４】

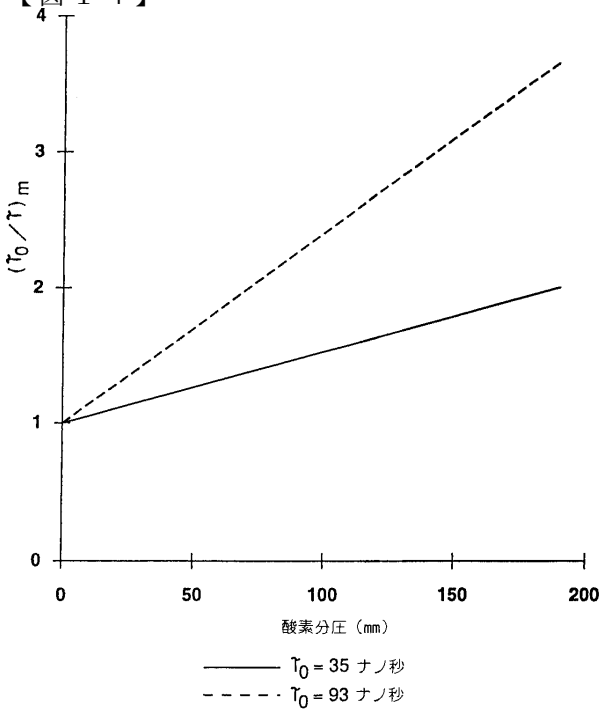

Fig. 14

【図１５】

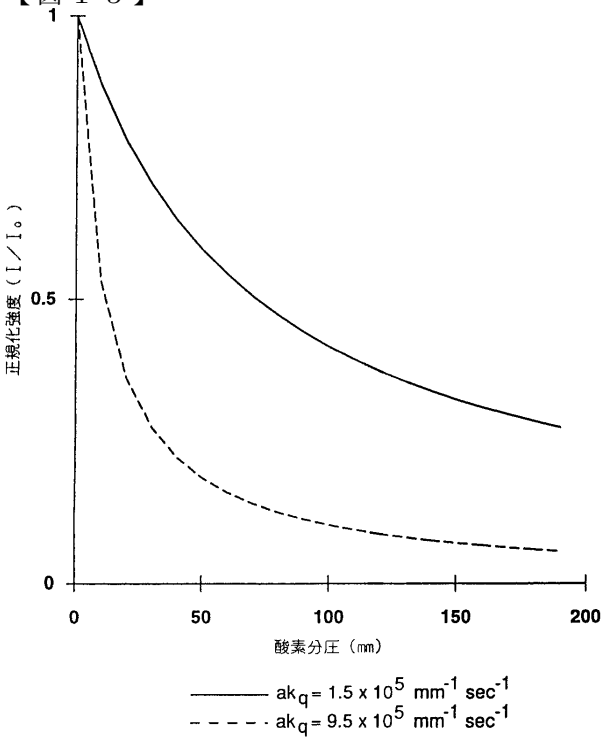

Fig. 15

【図１６】

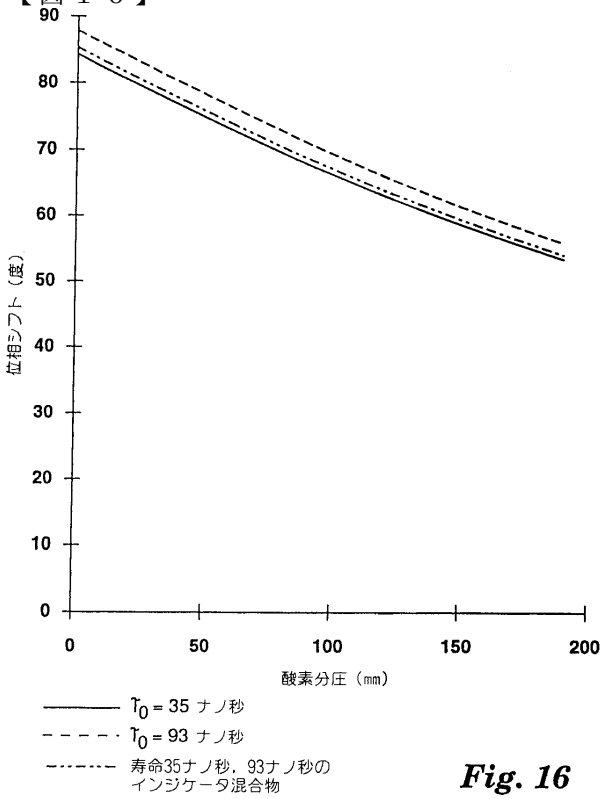

Fig. 16

【図１７】

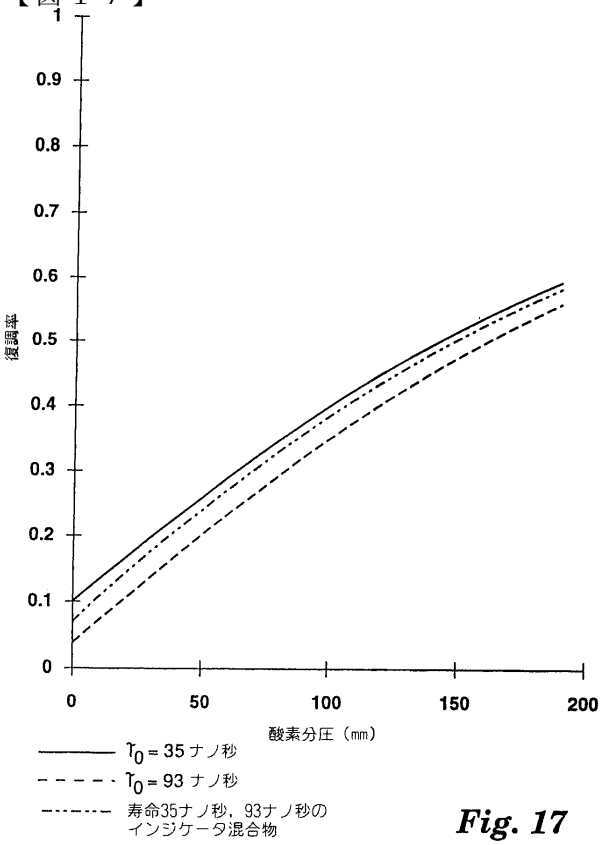

Fig. 17

【図１８】

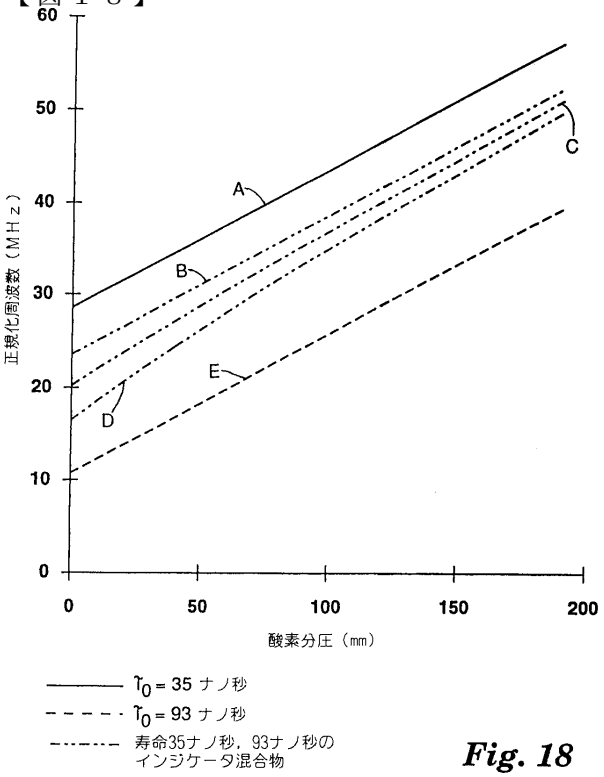

Fig. 18

【図１９】

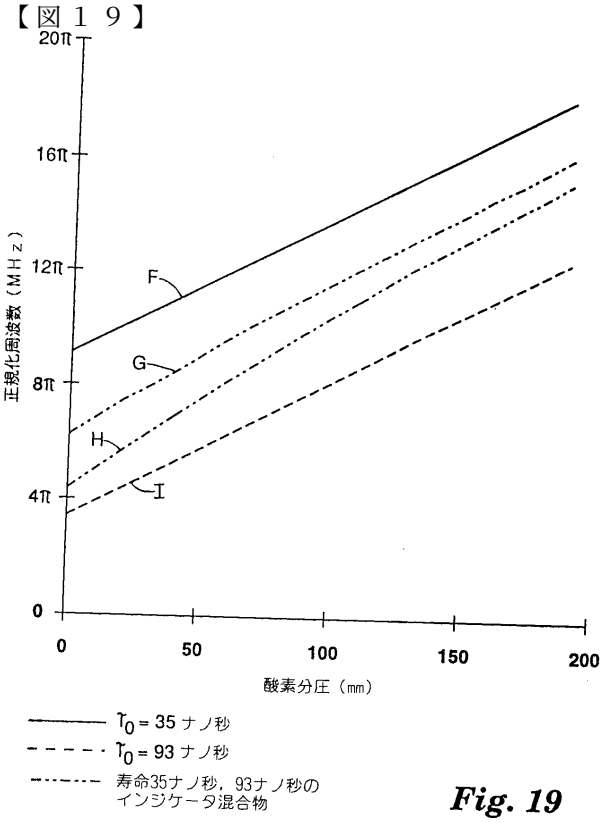

Fig. 19

【図２０】

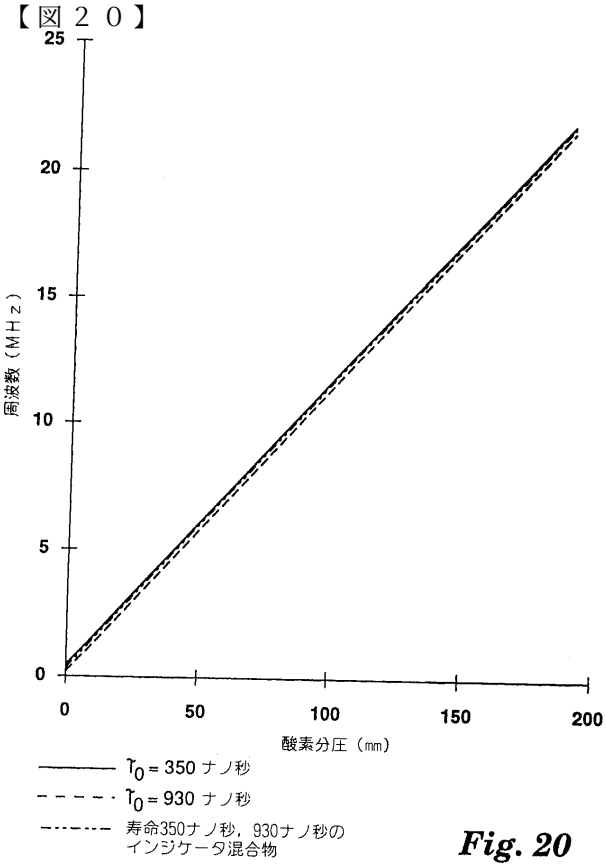

Fig. 20

【図２１】

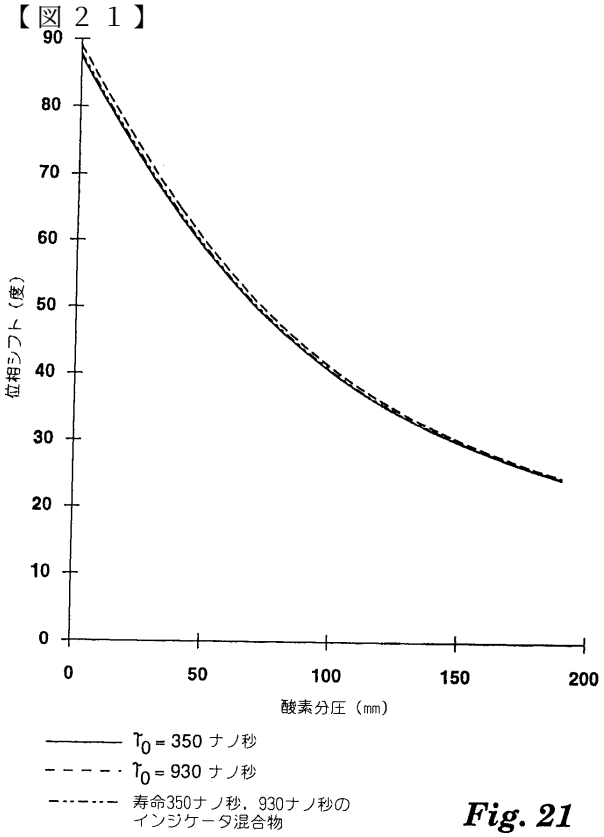

Fig. 21

【図２２】

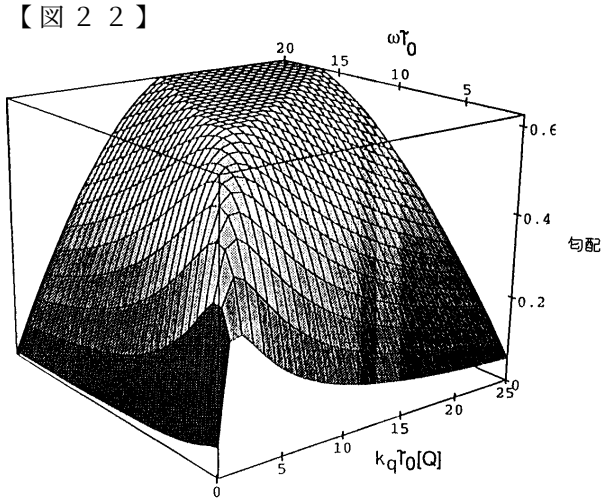

Fig. 22

フロントページの続き

(72)発明者　ベントツェン，ジェームス　ジー.
アメリカ合衆国，ミネソタ　５５１３３－３４２７，セント　ポール，ポスト　オフィス　ボックス　３３４２７　（番地なし）

審査官　横井　亜矢子

(56)参考文献　特開平０４－２１８１４０（ＪＰ，Ａ）
特開平０２－２９７０４５（ＪＰ，Ａ）
特開平０２－１６７４４７（ＪＰ，Ａ）
特表平０５－５０７６１１（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.[7]，ＤＢ名)
G01N 21/62 - 21/83
A61B 5/145
JICSTファイル(JOIS)