

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6726859号  
(P6726859)

(45) 発行日 令和2年7月22日(2020.7.22)

(24) 登録日 令和2年7月2日(2020.7.2)

(51) Int.Cl.

GO 1 N 21/64 (2006.01)

F I

GO 1 N 21/64

Z

請求項の数 4 (全 22 頁)

(21) 出願番号	特願2017-29512 (P2017-29512)	(73) 特許権者	314012076 パナソニックIPマネジメント株式会社 大阪府大阪市中央区域見2丁目1番61号
(22) 出願日	平成29年2月20日(2017.2.20)	(74) 代理人	100109210 弁理士 新居 広守
(65) 公開番号	特開2018-136156 (P2018-136156A)	(74) 代理人	100137235 弁理士 寺谷 英作
(43) 公開日	平成30年8月30日(2018.8.30)	(74) 代理人	100131417 弁理士 道坂 伸一
審査請求日	令和1年12月4日(2019.12.4)	(72) 発明者	田中 浩之 大阪府門真市大字門真1006番地 パナソニック株式会社内
		(72) 発明者	西内 健一 大阪府門真市大字門真1006番地 パナソニック株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蛍光検出器及びその制御方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

試料に励起光を照射することにより、前記試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器の制御方法であって、

第1の発光素子及び第2の発光素子からそれぞれ、互いに異なる中心波長の第1の励起光及び第2の励起光を第1の定格出力及び第2の定格出力で順に発するステップと、

前記試料に前記第1の励起光及び前記第2の励起光を順に照射することにより、前記試料から発生した互いに異なる中心波長の第1の蛍光及び第2の蛍光を受光素子で順に受光して受光信号を生成するステップと、を含み、

前記発するステップでは、

前記第1の発光素子から前記第1の定格出力で前記第1の励起光を発している際には、前記第2の発光素子は、前記第2の定格出力よりも低い出力で前記第2の励起光を発し、前記第2の発光素子から前記第2の定格出力で前記第2の励起光を発している際には、前記第1の発光素子は、前記第1の定格出力よりも低い出力で前記第1の励起光を発する蛍光検出器の制御方法。

【請求項2】

前記発するステップでは、

前記第1の発光素子から前記第1の定格出力で前記第1の励起光を発している際には、前記第2の発光素子は、前記第2の定格出力の28%以下の出力で前記第2の励起光を発し、

前記第2の発光素子から前記第2の定格出力で前記第2の励起光を発している際には、前記第1の発光素子は、前記第1の定格出力の28%以下の出力で前記第1の励起光を発する

請求項1に記載の蛍光検出器の制御方法。

【請求項3】

前記蛍光検出器の制御方法は、さらに、

前記第1の発光素子から前記第1の定格出力で前記第1の励起光を発している際には、前記受光信号のうち前記第2の蛍光に対応する信号成分を演算により除去し、前記第2の発光素子から前記第2の定格出力で前記第2の励起光を発している際には、前記受光信号のうち前記第1の蛍光に対応する信号成分を演算により除去するステップを含む

10

請求項1又は2に記載の蛍光検出器の制御方法。

【請求項4】

試料に励起光を照射することにより、前記試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器であって、

第1の励起光を発する第1の発光素子と、

前記第1の励起光と中心波長が異なる第2の励起光を発する第2の発光素子と、

前記第1の発光素子が発光した際には、前記第1の発光素子からの前記第1の励起光が前記試料に照射されることにより、前記試料から発生した第1の蛍光を受光し、前記第2の発光素子が発光した際には、前記第2の発光素子からの前記第2の励起光が前記試料に照射されることにより、前記試料から発生した前記第1の蛍光と中心波長が異なる第2の

20

蛍光を受光する受光素子と、  
前記第1の発光素子及び前記第2の発光素子からそれぞれ第1の定格出力及び第2の定格出力で前記第1の励起光及び前記第2の励起光を順に発するように、前記第1の発光素子及び前記第2の発光素子を制御する制御部と、を備え、

前記制御部は、

前記第1の発光素子から前記第1の定格出力で前記第1の励起光を発している際には、前記第2の発光素子は、前記第2の定格出力よりも低い出力で前記第2の励起光を発し、

前記第2の発光素子から前記第2の定格出力で前記第2の励起光を発している際には、前記第1の発光素子は、前記第1の定格出力よりも低い出力で前記第1の励起光を発するように、前記第1の発光素子及び前記第2の発光素子を制御する

30

蛍光検出器。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、試料に励起光を照射することにより、試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器及びその制御方法に関する。

【背景技術】

【0002】

バイオ分野では、試料中に存在するDNA（デオキシリボ核酸）、RNA（リボ核酸）又は蛋白質等の生体分子を検出する蛍光検出法が知られている。この蛍光検出法では、蛍光分子でラベリングした試料に励起光を照射して励起させることにより、試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器が用いられている。

40

【0003】

上述した蛍光検出器として、互いに異なる中心波長の複数種類の蛍光分子でそれぞれラベリングされた複数種類の生体分子を一括で検出する、いわゆるマルチカラータイプの蛍光検出器が知られている（例えば、特許文献1及び2参照）。このタイプの蛍光検出器は、互いに異なる中心波長の励起光を発する複数の発光素子を備えている。

【0004】

このタイプの蛍光検出器では、試料にラベリングされた蛍光分子の種類に応じて、試料に照射すべき最適な励起光の中心波長が異なる。そのため、複数の発光素子を順に発光さ

50

せることにより、異なる中心波長の複数の励起光が順に試料に照射され、複数種類の生体分子を一括で検出することができる。このとき、複数の発光素子のうち発光している発光素子以外の発光素子の発光は、完全にオフされている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】国際公開第2004/063731号

【特許文献2】国際公開第2013/191135号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

近年では、蛍光検出器による検出時間を短縮化することが要望されている。しかしながら、上述した従来の蛍光検出器では、発光素子を発光させた際に、発光素子の出力が安定するのに時間を要するため、複数の発光素子の発光を高速で切り替えることが難しいという課題が生じる。

【0007】

そこで、本発明は、複数の発光素子の発光を高速で切り替えることができる蛍光検出器及びその製造方法を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の一態様に係る蛍光検出器の制御方法は、試料に励起光を照射することにより、前記試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器の制御方法であって、第1の発光素子及び第2の発光素子からそれぞれ、互いに異なる中心波長の第1の励起光及び第2の励起光を第1の定格出力及び第2の定格出力で順に発するステップと、前記試料に前記第1の励起光及び前記第2の励起光を順に照射することにより、前記試料から発生した互いに異なる中心波長の第1の蛍光及び第2の蛍光を受光素子で順に受光して受光信号を生成するステップと、を含み、前記発するステップでは、前記第1の発光素子から前記第1の定格出力で前記第1の励起光を発している際には、前記第2の発光素子は、前記第2の定格出力よりも低い出力で前記第2の励起光を発し、前記第2の発光素子から前記第2の定格出力で前記第2の励起光を発している際には、前記第1の発光素子は、前記第1の定格出力よりも低い出力で前記第1の励起光を発する。

【0009】

なお、これらの包括的又は具体的な態様は、システム、方法、集積回路、コンピュータプログラム又はコンピュータ読み取り可能なCD-ROMなどの記録媒体で実現されてもよく、システム、方法、集積回路、コンピュータプログラム及び記録媒体の任意な組み合わせで実現されてもよい。

【発明の効果】

【0010】

本発明の一態様に係る蛍光検出器の制御方法では、複数の発光素子の発光を高速で切り替えることができる。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】実施の形態1に係る蛍光検出器の外観を示す図である。

【図2】実施の形態1に係る蛍光検出器の構成を簡略的に示す図である。

【図3】実施の形態1に係る励起フィルタの透過特性を示す図である。

【図4】実施の形態1に係るダイクロイックミラーの透過特性を示す図である。

【図5】実施の形態1に係る吸収フィルタの透過特性を示す図である。

【図6】実施の形態1に係る蛍光検出器の動作を示すフローチャートである。

【図7】実施例に係る蛍光検出器の各発光素子の発光シーケンスを示す図である。

【図8】実施例に係る蛍光検出器の各発光素子の発光条件を示す図である。

10

20

30

40

50

【図 9】実施例に係る蛍光検出器のダイクロイックミラーの透過特性を示す図である。

【図 10】比較例に係る蛍光検出器の各発光素子の発光シーケンスを示す図である。

【図 11】実施例に係る蛍光検出器による蛍光信号の検出結果を示す図である。

【図 12】図 11 の蛍光信号のクロストーク比率を示す図である。

【図 13】実施例及び比較例に係る蛍光検出器による蛍光強度の検出結果を示す図である。

【図 14】実施の形態 2 に係る蛍光検出器の構成を簡略的に示す図である。

【図 15】実施の形態 2 に係る蛍光検出器の受光素子を示す平面図である。

【発明を実施するための形態】

【0012】

10

本発明の一態様に係る蛍光検出器の制御方法は、試料に励起光を照射することにより、前記試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器の制御方法であって、第 1 の発光素子及び第 2 の発光素子からそれぞれ、互いに異なる中心波長の第 1 の励起光及び第 2 の励起光を第 1 の定格出力及び第 2 の定格出力で順に発するステップと、前記試料に前記第 1 の励起光及び前記第 2 の励起光を順に照射することにより、前記試料から発生した互いに異なる中心波長の第 1 の蛍光及び第 2 の蛍光を受光素子で順に受光して受光信号を生成するステップと、を含み、前記発するステップでは、前記第 1 の発光素子から前記第 1 の定格出力で前記第 1 の励起光を発している際には、前記第 2 の発光素子は、前記第 2 の定格出力よりも低い出力で前記第 2 の励起光を発し、前記第 2 の発光素子から前記第 2 の定格出力で前記第 2 の励起光を発している際には、前記第 1 の発光素子は、前記第 1 の定格出力よりも低い出力で前記第 1 の励起光を発する。

20

【0013】

本態様によれば、例えば、第 1 の発光素子から第 1 の定格出力で第 1 の励起光を発している際には、第 2 の発光素子は第 2 の定格出力よりも低い出力で第 2 の励起光を発している。これにより、次のシーケンスで第 2 の発光素子から第 2 の定格出力で第 2 の励起光を発する際には、直前のシーケンスで第 2 の発光素子の発光を完全にオフさせていた場合と比較して、第 2 の発光素子の出力を短時間で安定させることができる。その結果、第 1 の発光素子の発光と第 2 の発光素子の発光とを高速で切り替えることができる。

【0014】

例えば、前記発するステップでは、前記第 1 の発光素子から前記第 1 の定格出力で前記第 1 の励起光を発している際には、前記第 2 の発光素子は、前記第 2 の定格出力の 28% 以下の出力で前記第 2 の励起光を発し、前記第 2 の発光素子から前記第 2 の定格出力で前記第 2 の励起光を発している際には、前記第 1 の発光素子は、前記第 1 の定格出力の 28% 以下の出力で前記第 1 の励起光を発するように構成してもよい。

30

【0015】

例えば、前記蛍光検出器の制御方法は、さらに、前記第 1 の発光素子から前記第 1 の定格出力で前記第 1 の励起光を発している際には、前記受光信号のうち前記第 2 の蛍光に対応する信号成分を演算により除去し、前記第 2 の発光素子から前記第 2 の定格出力で前記第 2 の励起光を発している際には、前記受光信号のうち前記第 1 の蛍光に対応する信号成分を演算により除去するステップを含むように構成してもよい。

40

【0016】

本態様によれば、より信頼性の高い受光信号を生成することができる。

【0017】

また、本発明の一態様に係る蛍光検出器は、試料に励起光を照射することにより、前記試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出器であって、第 1 の励起光を発する第 1 の発光素子と、前記第 1 の励起光と中心波長が異なる第 2 の励起光を発する第 2 の発光素子と、前記第 1 の発光素子が発光した際には、前記第 1 の発光素子からの前記第 1 の励起光が前記試料に照射されることにより、前記試料から発生した第 1 の蛍光を受光し、前記第 2 の発光素子が発光した際には、前記第 2 の発光素子からの前記第 2 の励起光が前記試料に照射されることにより、前記試料から発生した前記第 1 の蛍光と中心波長が異なる第 2 の蛍

50

光を受光する受光素子と、前記第1の発光素子及び前記第2の発光素子からそれぞれ第1の定格出力及び第2の定格出力で前記第1の励起光及び前記第2の励起光を順に発するように、前記第1の発光素子及び前記第2の発光素子を制御する制御部と、を備え、前記制御部は、前記第1の発光素子から前記第1の定格出力で前記第1の励起光を発している際には、前記第2の発光素子は、前記第2の定格出力よりも低い出力で前記第2の励起光を発し、前記第2の発光素子から前記第2の定格出力で前記第2の励起光を発している際には、前記第1の発光素子は、前記第1の定格出力よりも低い出力で前記第1の励起光を発するように、前記第1の発光素子及び前記第2の発光素子を制御する。

【0018】

本態様によれば、第1の発光素子から第1の定格出力で第1の励起光を発している際には、第2の発光素子は第2の定格出力よりも低い出力で第2の励起光を発している。これにより、次のシーケンスで第2の発光素子から第2の定格出力で第2の励起光を発する際には、直前のシーケンスで第2の発光素子の発光を完全にオフさせていた場合と比較して、第2の発光素子の出力を短時間で安定させることができる。その結果、第1の発光素子の発光と第2の発光素子の発光とを高速で切り替えることができる。

10

【0019】

なお、これらの包括的又は具体的な態様は、システム、方法、集積回路、コンピュータプログラム又はコンピュータ読み取り可能なCD-ROMなどの記録媒体で実現されてもよく、システム、方法、集積回路、コンピュータプログラム又は記録媒体の任意な組み合わせで実現されてもよい。

20

【0020】

以下、実施の形態について、図面を参照しながら具体的に説明する。

【0021】

なお、以下で説明する実施の形態は、いずれも包括的又は具体的な例を示すものである。以下の実施の形態で示される数値、形状、材料、構成要素、構成要素の配置位置及び接続形態、ステップ、ステップの順序などは、一例であり、本発明を限定する主旨ではない。また、以下の実施の形態における構成要素のうち、最上位概念を示す独立請求項に記載されていない構成要素については、任意の構成要素として説明される。

【0022】

(実施の形態1)

30

[1-1. 蛍光検出器の構成]

まず、図1及び図2を参照しながら、実施の形態1に係る蛍光検出器2の構成について説明する。図1は、実施の形態1に係る蛍光検出器2の外観を示す図である。図1の(a)は、蛍光検出器2の正面側を示す図であり、図1の(b)は、図1の(a)のI-I線断面図である。図2は、実施の形態1に係る蛍光検出器2の構成を簡略的に示す図である。

【0023】

図1に示すように、蛍光検出器2は、試料4に励起光を照射して励起させることにより、試料4から発生した蛍光を検出する、いわゆるマルチカラータイプの蛍光検出器である。蛍光検出器2は、筐体6と、筐体6の内部に配置された光学系8とを備えている。

40

【0024】

試料4は、蛍光検出器2の検出対象となる試料であり、例えばマイクロTAS (Total Analysis Systems) チップである。試料4には、互いに異なる中心波長の複数種類の蛍光分子でそれぞれラベリングされた複数種類の生体分子が含まれている。具体的には、試料4には、a) 第1の励起光(後述する)が照射されることにより励起して第1の蛍光(例えば中心波長455nm)を発生する第1の蛍光分子(例えばPaciflic Blue)でラベリングされた生体分子と、b) 第2の励起光(後述する)が照射されることにより励起して第2の蛍光(例えば中心波長512nm)を発生する第2の蛍光分子(例えばBODIPY-FL)でラベリングされた生体分子と、c) 第3の励起光(後述する)が照射されることにより励起して第3の蛍光(例えば中心波長58

50

0 nm) を発生する第 3 の蛍光分子 (例えば TAMRA) でラベリングされた生体分子と、d) 第 4 の励起光 (後述する) が照射されることにより励起して第 4 の蛍光 (例えば中心波長 680 nm) を発生する第 4 の蛍光分子 (例えば ATTO665) でラベリングされた生体分子とが含まれている。

【0025】

図 2 に示すように、蛍光検出器 2 の光学系 8 は、第 1 の発光素子 10 と、第 2 の発光素子 12 と、第 3 の発光素子 14 と、第 4 の発光素子 16 と、第 1 のレンズ 18 と、第 2 のレンズ 20 と、第 3 のレンズ 22 と、第 4 のレンズ 24 と、第 1 のダイクロイックミラー 26 と、第 2 のダイクロイックミラー 28 と、第 3 のダイクロイックミラー 30 と、第 5 のレンズ 32 と、励起フィルタ 34 と、ダイクロイックミラー 36 と、第 6 のレンズ 38 と、吸収フィルタ 40 と、第 7 のレンズ 42 と、受光素子 44 とを備えている。

10

【0026】

第 1 の発光素子 10、第 2 の発光素子 12、第 3 の発光素子 14 及び第 4 の発光素子 16 は、互いに異なる中心波長の単色のレーザー光を励起光として発するレーザーダイオードである。具体的には、第 1 の発光素子 10 は、第 1 の中心波長 1 (例えば 405 nm) の紫色のレーザー光を第 1 の励起光として発する。第 2 の発光素子 12 は、第 2 の中心波長 2 (例えば 470 nm) の青色のレーザー光を第 2 の励起光として発する。第 3 の発光素子 14 は、第 3 の中心波長 3 (例えば 528 nm) の緑色のレーザー光を第 3 の励起光として発する。第 4 の発光素子 16 は、第 4 の中心波長 4 (例えば 632 nm) の赤色のレーザー光を第 4 の励起光として発する。

20

【0027】

第 1 のレンズ 18、第 2 のレンズ 20、第 3 のレンズ 22 及び第 4 のレンズ 24 はそれぞれ、第 1 の発光素子 10、第 2 の発光素子 12、第 3 の発光素子 14 及び第 4 の発光素子 16 からのレーザー光を発散光から平行光に変換するコリメートレンズである。

【0028】

第 1 のダイクロイックミラー 26、第 2 のダイクロイックミラー 28 及び第 3 のダイクロイックミラー 30 の各々は、特定の中心波長の光のみを反射し、その他の中心波長の光を透過する光学素子である。具体的には、第 1 のダイクロイックミラー 26 は、緑色のレーザー光のみを反射し、緑色以外の色のレーザー光を透過する。第 2 のダイクロイックミラー 28 は、青色のレーザー光のみを反射し、青色以外の色のレーザー光を透過する。第 3 のダイクロイックミラー 30 は、紫色のレーザー光のみを反射し、紫色以外の色のレーザー光を透過する。

30

【0029】

第 4 の発光素子 16 からの赤色のレーザー光 (第 4 の励起光) は、第 1 のダイクロイックミラー 26、第 2 のダイクロイックミラー 28 及び第 3 のダイクロイックミラー 30 の各々を透過する。第 3 の発光素子 14 からの緑色のレーザー光 (第 3 の励起光) は、第 1 のダイクロイックミラー 26 で反射した後に、第 2 のダイクロイックミラー 28 及び第 3 のダイクロイックミラー 30 を透過する。第 2 の発光素子 12 からの青色のレーザー光 (第 2 の励起光) は、第 2 のダイクロイックミラー 28 で反射した後に、第 3 のダイクロイックミラー 30 を透過する。第 1 の発光素子 10 からの紫色のレーザー光 (第 1 の励起光) は、第 3 のダイクロイックミラー 30 で反射する。

40

【0030】

第 5 のレンズ 32 は、第 3 のダイクロイックミラー 30 から出射したレーザー光を集光するための集光レンズである。

【0031】

励起フィルタ 34 は、複数の波長帯域の光のみを透過する、いわゆるマルチバンドパスタイプのフィルタである。励起フィルタ 34 は、第 1 の発光素子 10、第 2 の発光素子 12、第 3 の発光素子 14 及び第 4 の発光素子 16 とダイクロイックミラー 36 との間に配置されている。図 3 は、実施の形態 1 に係る励起フィルタ 34 の透過特性を示す図である。図 3 の (a) は、励起フィルタ 34 の透過特性を示すグラフであり、図 3 の (b) は、

50

励起フィルタ 3 4 により制限された、第 1 の励起光、第 2 の励起光、第 3 の励起光及び第 4 の励起光の各波長帯域を示すグラフであり、図 3 の ( c ) は、試料 4 における吸収 / 蛍光強度を示すグラフである。

【 0 0 3 2 】

図 3 に示す例では、励起フィルタ 3 4 は、第 1 の波長帯域 B 1、第 2 の波長帯域 B 2、第 3 の波長帯域 B 3 及び第 4 の波長帯域 B 4 (  $B 1 < B 2 < B 3 < B 4$  ) のレーザ光のみを透過する。これにより、励起フィルタ 3 4 は、第 1 の発光素子 1 0 からの第 1 の励起光の波長帯域を第 1 の波長帯域 B 1 に制限する。また、励起フィルタ 3 4 は、第 2 の発光素子 1 2 からの第 2 の励起光の波長帯域を第 2 の波長帯域 B 2 に制限する。また、励起フィルタ 3 4 は、第 3 の発光素子 1 4 からの第 3 の励起光の波長帯域を第 3 の波長帯域 B 3 に制限する。また、励起フィルタ 3 4 は、第 4 の発光素子 1 6 からの第 4 の励起光の波長帯域を第 4 の波長帯域 B 4 に制限する。

10

【 0 0 3 3 】

ダイクロイックミラー 3 6 は、複数の中心波長の光のみを反射し、その他の中心波長の光を透過する、いわゆるマルチバンドパスタタイプのダイクロイックミラーである。図 4 は、実施の形態 1 に係るダイクロイックミラー 3 6 の透過特性を示す図である。図 4 の ( a ) は、ダイクロイックミラー 3 6 の透過特性を示すグラフであり、図 4 の ( b ) は、試料 4 における吸収 / 蛍光強度を示すグラフである。

【 0 0 3 4 】

図 4 に示す例では、ダイクロイックミラー 3 6 は、第 1 の中心波長 1 のレーザ光 ( 第 1 の励起光 )、第 2 の中心波長 2 のレーザ光 ( 第 2 の励起光 )、第 3 の中心波長 3 のレーザ光 ( 第 3 の励起光 ) 及び第 4 の中心波長 4 のレーザ光 ( 第 4 の励起光 ) のみを反射し、その他の中心波長のレーザ光及び蛍光 ( 例えば、第 1 の蛍光、第 2 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光 ) を透過する。

20

【 0 0 3 5 】

第 6 のレンズ 3 8 は、ダイクロイックミラー 3 6 で反射したレーザ光、及び、試料 4 から発生した蛍光を集光するための集光レンズである。

【 0 0 3 6 】

吸収フィルタ 4 0 は、複数の波長帯域の光のみを透過する、いわゆるマルチバンドパスタタイプのフィルタである。吸収フィルタ 4 0 は、ダイクロイックミラー 3 6 と受光素子 4 4 との間に配置されている。図 5 は、実施の形態 1 に係る吸収フィルタ 4 0 の透過特性を示す図である。図 5 の ( a ) は、吸収フィルタ 4 0 の透過特性を示すグラフであり、図 5 の ( b ) は、吸収フィルタ 4 0 により制限された、第 1 の蛍光、第 2 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光の各波長帯域を示すグラフであり、図 5 の ( c ) は、試料 4 における吸収 / 蛍光強度を示すグラフである。

30

【 0 0 3 7 】

図 5 に示す例では、吸収フィルタ 4 0 は、第 5 の波長帯域 B 5、第 6 の波長帯域 B 6、第 7 の波長帯域 B 7 及び第 8 の波長帯域 B 8 (  $B 5 < B 6 < B 7 < B 8$  ) の蛍光のみを透過する。これにより、吸収フィルタ 4 0 は、試料 4 から発生した第 1 の蛍光の波長帯域を第 5 の波長帯域 B 5 に制限する。また、吸収フィルタ 4 0 は、試料 4 から発生した第 2 の蛍光の波長帯域を第 6 の波長帯域 B 6 に制限する。また、吸収フィルタ 4 0 は、試料 4 から発生した第 3 の蛍光の波長帯域を第 7 の波長帯域 B 7 に制限する。また、吸収フィルタ 4 0 は、試料 4 から発生した第 4 の蛍光の波長帯域を第 8 の波長帯域 B 8 に制限する。

40

【 0 0 3 8 】

第 7 のレンズ 4 2 は、吸収フィルタ 4 0 を透過した蛍光を集光するための集光レンズである。

【 0 0 3 9 】

受光素子 4 4 は、第 7 のレンズ 4 2 からの蛍光 ( 第 1 の蛍光、第 2 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光 ) を受光することにより、蛍光強度を示す受光信号 ( 蛍光信号 ) を生成する。

50

## 【 0 0 4 0 】

なお、図 1 に示すように、第 1 の発光素子 1 0、第 2 の発光素子 1 2、第 3 の発光素子 1 4、第 4 の発光素子 1 6、ダイクロイックミラー 3 6 及び受光素子 4 4 は、ダイクロイックミラー 3 6 で反射した励起光（第 1 の励起光、第 2 の励起光、第 3 の励起光及び第 4 の励起光）と、ダイクロイックミラー 3 6 を透過した蛍光（第 1 の蛍光、第 2 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光）とが同一平面上（YZ 平面上）に位置するように配置されている。

## 【 0 0 4 1 】

図 2 に示すように、蛍光検出器 2 は、さらに、制御部 4 6 を備えている。制御部 4 6 は、第 1 の発光素子 1 0、第 2 の発光素子 1 2、第 3 の発光素子 1 4 及び第 4 の発光素子 1 6 を、所定の定格出力（例えば光量 1 0 0 %）（第 1 の定格出力及び第 2 の定格出力の一例）で且つこの順のシーケンスで繰り返し発光させる。

10

## 【 0 0 4 2 】

このとき、制御部 4 6 は、第 1 の発光素子 1 0 を所定の定格出力で発光させている際には、第 1 の発光素子 1 0 以外の第 2 の発光素子 1 2、第 3 の発光素子 1 4 及び第 4 の発光素子 1 6 を所定の定格出力よりも低い出力、具体的には発光閾値（例えば光量 1 % 未満）以上且つ所定の定格出力の 2 8 %（例えば光量 2 8 %）以下の出力で発光させる。また、制御部 4 6 は、第 2 の発光素子 1 2 を所定の定格出力で発光させている際には、第 2 の発光素子 1 2 以外の第 1 の発光素子 1 0、第 3 の発光素子 1 4 及び第 4 の発光素子 1 6 を発光閾値以上且つ所定の定格出力の 2 8 % 以下の出力で発光させる。

20

## 【 0 0 4 3 】

また、制御部 4 6 は、第 3 の発光素子 1 4 を所定の定格出力で発光させている際には、第 3 の発光素子 1 4 以外の第 1 の発光素子 1 0、第 2 の発光素子 1 2 及び第 4 の発光素子 1 6 を発光閾値以上且つ所定の定格出力の 2 8 % 以下の出力で発光させる。また、制御部 4 6 は、第 4 の発光素子 1 6 を所定の定格出力で発光させている際には、第 4 の発光素子 1 6 以外の第 1 の発光素子 1 0、第 2 の発光素子 1 2 及び第 3 の発光素子 1 4 を発光閾値以上且つ所定の定格出力の 2 8 % 以下の出力で発光させる。

## 【 0 0 4 4 】

さらに、制御部 4 6 は、受光素子 4 4 により生成された受光信号を受信する。このとき、制御部 4 6 は、第 1 の発光素子 1 0 を所定の定格出力で発光させている際には、受光信号のうち第 1 の蛍光に対応する信号成分を検出し、且つ、受光信号のうち第 2 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光に対応する信号成分を演算により除去する。また、制御部 4 6 は、第 2 の発光素子 1 2 を所定の定格出力で発光させている際には、受光信号のうち第 2 の蛍光に対応する信号成分を検出し、且つ、受光信号のうち第 1 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光に対応する信号成分を演算により除去する。

30

## 【 0 0 4 5 】

また、制御部 4 6 は、第 3 の発光素子 1 4 を所定の定格出力で発光させている際には、受光信号のうち第 3 の蛍光に対応する信号成分を検出し、且つ、受光信号のうち第 1 の蛍光、第 2 の蛍光及び第 4 の蛍光に対応する信号成分を演算により除去する。また、制御部 4 6 は、第 4 の発光素子 1 6 を所定の定格出力で発光させている際には、受光信号のうち第 4 の蛍光に対応する信号成分を検出し、且つ、受光信号のうち第 1 の蛍光、第 2 の蛍光及び第 3 の蛍光に対応する信号成分を演算により除去する。

40

## 【 0 0 4 6 】

## [ 1 - 2 . 蛍光検出器の動作 ]

次に、図 2 及び図 6 を参照しながら、蛍光検出器 2 の動作（蛍光検出器 2 の制御方法）について説明する。図 6 は、実施の形態 1 に係る蛍光検出器 2 の動作を示すフローチャートである。

## 【 0 0 4 7 】

図 6 に示すように、まず、第 1 のシーケンス（S 1 ~ S 3）が実行される。制御部 4 6 は、第 1 の発光素子 1 0 を所定の定格出力で発光させる（S 1）。このとき、制御部 4 6

50

は、第1の発光素子10以外の第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

【0048】

図2に示すように、第1の発光素子10からの第1の励起光は、第3のダイクロイックミラー30で反射した後に、第5のレンズ32を透過して励起フィルタ34に入射する。このとき、励起フィルタ34は、第1の励起光の波長帯域を第1の波長帯域B1(図3参照)に制限する。励起フィルタ34を透過した第1の励起光は、ダイクロイックミラー36で反射した後に、第6のレンズ38を透過して試料4に照射される。

【0049】

試料4に含まれる第1の蛍光分子が第1の励起光で励起されることにより、試料4から第1の蛍光が発生する。試料4から発生した第1の蛍光は、第6のレンズ38及びダイクロイックミラー36を透過した後に、吸収フィルタ40に入射する。このとき、吸収フィルタ40は、第1の蛍光の波長帯域を第5の波長帯域B5(図5参照)に制限する。吸収フィルタ40を透過した第1の蛍光は、第7のレンズ42を透過して受光素子44により受光される(S2)。これにより、受光素子44は、受光した第1の蛍光に基づいて受光信号を生成する。

10

【0050】

上述したように、第1の発光素子10以外の第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16は比較的低い光量で発光しているため、受光信号には、第1の蛍光に対応する信号成分以外に、第2の蛍光、第3の蛍光及び第4の蛍光に対応する信号成分が僅かに含まれる。そのため、制御部46は、受光信号のうち第2の蛍光、第3の蛍光及び第4の蛍光に対応する信号成分を演算により除去することにより、受光信号のうち第1の蛍光に対応する信号成分のみを検出することができる。

20

【0051】

その後、制御部46は、第1の発光素子10の出力を所定の定格出力から低下させ(S3)、発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

【0052】

次に、第2のシーケンス(S4~S6)が実行される。制御部46は、第2の発光素子12を所定の定格出力で発光させる(S4)。このとき、制御部46は、第2の発光素子12以外の第1の発光素子10、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

30

【0053】

図2に示すように、第2の発光素子12からの第2の励起光は、第2のダイクロイックミラー28で反射した後に、第3のダイクロイックミラー30及び第5のレンズ32を透過して励起フィルタ34に入射する。このとき、励起フィルタ34は、第2の励起光の波長帯域を第2の波長帯域B2(図3参照)に制限する。励起フィルタ34を透過した第2の励起光は、ダイクロイックミラー36で反射した後に、第6のレンズ38を透過して試料4に照射される。

【0054】

試料4に含まれる第2の蛍光分子が第2の励起光で励起されることにより、試料4から第2の蛍光が発生する。試料4から発生した第2の蛍光は、第6のレンズ38及びダイクロイックミラー36を透過した後に、吸収フィルタ40に入射する。このとき、吸収フィルタ40は、第2の蛍光の波長帯域を第6の波長帯域B6(図5参照)に制限する。吸収フィルタ40を透過した第2の蛍光は、第7のレンズ42を透過して受光素子44により受光される(S5)。これにより、受光素子44は、受光した第2の蛍光に基づいて受光信号を生成する。

40

【0055】

上述したように、第2の発光素子12以外の第1の発光素子10、第3の発光素子14及び第4の発光素子16は比較的低い光量で発光しているため、受光信号には、第2の蛍光に対応する信号成分以外に、第1の蛍光、第3の蛍光及び第4の蛍光に対応する信号成

50

分が僅かに含まれる。そのため、制御部46は、受光信号のうち第1の蛍光、第3の蛍光及び第4の蛍光に対応する信号成分を演算により除去することにより、受光信号のうち第2の蛍光に対応する信号成分のみを検出することができる。

【0056】

その後、制御部46は、第2の発光素子12の出力を所定の定格出力から低下させ(S6)、発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

【0057】

次に、第3のシーケンス(S7~S9)が実行される。制御部46は、第3の発光素子14を所定の定格出力で発光させる(S7)。このとき、制御部46は、第3の発光素子14以外の第1の発光素子10、第2の発光素子12及び第4の発光素子16を発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

10

【0058】

図2に示すように、第3の発光素子14からの第3の励起光は、第1のダイクロイックミラー26で反射した後に、第2のダイクロイックミラー28、第3のダイクロイックミラー30及び第5のレンズ32を透過して励起フィルタ34に入射する。このとき、励起フィルタ34は、第3の励起光の波長帯域を第3の波長帯域B3(図3参照)に制限する。励起フィルタ34を透過した第3の励起光は、ダイクロイックミラー36で反射した後に、第6のレンズ38を透過して試料4に照射される。

【0059】

試料4に含まれる第3の蛍光分子が第3の励起光で励起されることにより、試料4から第3の蛍光が発生する。試料4から発生した第3の蛍光は、第6のレンズ38及びダイクロイックミラー36を透過した後に、吸収フィルタ40に入射する。このとき、吸収フィルタ40は、第3の蛍光の波長帯域を第7の波長帯域B7(図5参照)に制限する。吸収フィルタ40を透過した第3の蛍光は、第7のレンズ42を透過して受光素子44により受光される(S8)。これにより、受光素子44は、受光した第3の蛍光に基づいて受光信号を生成する。

20

【0060】

上述したように、第3の発光素子14以外の第1の発光素子10、第2の発光素子12及び第4の発光素子16は比較的低い光量で発光しているため、受光信号には、第3の蛍光に対応する信号成分以外に、第1の蛍光、第2の蛍光及び第4の蛍光に対応する信号成分が僅かに含まれる。そのため、制御部46は、受光信号のうち第1の蛍光、第2の蛍光及び第4の蛍光に対応する信号成分を演算により除去することにより、受光信号のうち第3の蛍光に対応する信号成分のみを検出することができる。

30

【0061】

その後、制御部46は、第3の発光素子14の出力を所定の定格出力から低下させ(S9)、発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

【0062】

次に、第4のシーケンス(S10~S12)が実行される。制御部46は、第4の発光素子16を所定の定格出力で発光させる(S10)。このとき、制御部46は、第4の発光素子16以外の第1の発光素子10、第2の発光素子12及び第3の発光素子14を発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

40

【0063】

図2に示すように、第4の発光素子16からの第4の励起光は、第1のダイクロイックミラー26、第2のダイクロイックミラー28、第3のダイクロイックミラー30及び第5のレンズ32を透過した後に、励起フィルタ34に入射する。このとき、励起フィルタ34は、第4の励起光の波長帯域を第4の波長帯域B4(図3参照)に制限する。励起フィルタ34を透過した第4の励起光は、ダイクロイックミラー36で反射した後に、第6のレンズ38を透過して試料4に照射される。

【0064】

試料4に含まれる第4の蛍光分子が第4の励起光で励起されることにより、試料4から

50

第4の蛍光が発生する。試料4から発生した第4の蛍光は、第6のレンズ38及びダイクロイックミラー36を透過した後、吸収フィルタ40に入射する。このとき、吸収フィルタ40は、第4の蛍光の波長帯域を第8の波長帯域B8（図5参照）に制限する。吸収フィルタ40を透過した第4の蛍光は、第7のレンズ42を透過して受光素子44により受光される（S11）。これにより、受光素子44は、受光した第4の蛍光に基づいて受光信号を生成する。

【0065】

上述したように、第4の発光素子16以外の第1の発光素子10、第2の発光素子12及び第3の発光素子14は比較的低い光量で発光しているため、受光信号には、第4の蛍光に対応する信号成分以外に、第1の蛍光、第2の蛍光及び第3の蛍光に対応する信号成分が僅かに含まれる。そのため、制御部46は、受光信号のうち第1の蛍光、第2の蛍光及び第3の蛍光に対応する信号成分を演算により除去することにより、受光信号のうち第4の蛍光に対応する信号成分のみを検出することができる。

10

【0066】

その後、制御部46は、第4の発光素子16の出力を所定の定格出力から低下させ（S12）、発光閾値以上且つ所定の定格出力の28%以下の出力で発光させる。

【0067】

第1～第4の蛍光の検出が終了していない場合には（S13でNO）、上述したステップS1～S12が再度実行される。第1～第4の蛍光の検出が終了した場合には（S13でYES）、蛍光検出器2の動作は完了する。

20

【0068】

[1-3. 効果]

上述したように、実施の形態1に係る蛍光検出器2では、例えば、第1の発光素子10を所定の定格出力で発光させている際には、第1の発光素子10以外の第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を所定の定格出力よりも低い出力で（0%よりも大きい光量で）発光させる。これにより、次のシーケンスで第2の発光素子12を所定の定格出力で発光させた際には、直前のシーケンスで第2の発光素子12の発光を完全にオフ（光量0%）させていた場合と比較して、第2の発光素子12の出力を短時間で安定させることができ、試料4から安定した第2の蛍光を発生させることができる。その結果、所定の定格出力で発光させる対象となる第1の発光素子10、第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を高速で切り替えることができる。

30

【0069】

なお、例えば、第2の発光素子12を所定の定格出力で発光させている際に、第2の発光素子12以外の第1の発光素子10、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を所定の定格出力の28%以下の出力で発光させるのが好ましい。このとき、第2の発光素子12以外の第1の発光素子10、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を所定の定格出力の28%を超える出力で発光させた場合には、例えば、試料4に含まれる第3の蛍光分子（TAMRA）が第3の発光素子14からの第3の励起光（緑色のレーザー光）で励起されることにより、第3の蛍光分子から発生する第3の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率が大きくなってしまふ。

40

【0070】

また、上述したように、実施の形態1に係る蛍光検出器2では、いわゆるマルチバンドパスタタイプのダイクロイックミラー36が用いられる。これにより、複数種類の蛍光分子が試料4にラベリングされている場合であっても、1つのダイクロイックミラー36により、複数種類の蛍光分子をそれぞれ励起させるための複数種類の励起光を反射することができ、且つ、複数種類の蛍光分子からそれぞれ発生した複数種類の蛍光を透過することができる。その結果、背景技術の欄で説明したターゲット及び当該ターゲットを回転させるためのモータ等を省略することができ、蛍光検出器2の小型化を図ることができる。

【0071】

なお、筐体6の大きさの一例としては、図1に示すように、筐体6の幅Wを約17mm

50

、奥行きDを約74mm、高さHを約39mmにすることができる。

【0072】

[1-4. 実施例及び比較例]

以下、図7～図13を参照しながら、蛍光検出器の実施例及び比較例について説明する。

【0073】

図7は、実施例に係る蛍光検出器2の各発光素子10, 12, 14及び16の発光シーケンスを示す図である。図8は、実施例に係る蛍光検出器2の各発光素子10, 12, 14及び16の発光条件を示す図である。図9は、実施例に係る蛍光検出器2のダイクロイックミラー36の透過特性を示す図である。図10は、比較例に係る蛍光検出器2'の各発光素子10, 12, 14及び16の発光シーケンスを示す図である。

10

【0074】

図11は、実施例に係る蛍光検出器2による蛍光信号の検出結果を示す図である。図12は、図11の蛍光信号のクロストーク比率を示す図である。図13は、実施例及び比較例に係る蛍光検出器2, 2'による蛍光強度の検出結果を示す図である。図13の(a)は、実施例に係る蛍光検出器2による蛍光強度の検出結果を示す図であり、(b)は、比較例に係る蛍光検出器2'による蛍光強度の検出結果を示す図であり、(c)は、実施例及び比較例に係る蛍光検出器2, 2'による蛍光強度の変動率を示す図である。

【0075】

[1-4-1. 実施例]

実施例に係る蛍光検出器として、図1に示す蛍光検出器2を用いた。筐体6は、アルミニウムの削り出しにより形成されたものを用いた。

20

【0076】

第1の発光素子10として、中心波長405nmの紫色の光を発するLED(Light Emitting Diode)(LED ENGINE社製、LZ1-00UB00)を用いた。第2の発光素子12として、中心波長470nmの青色の光を発するLED(OSRAM社製、LBW5SN-GYHZ-25)を用いた。第3の発光素子14として、中心波長528nmの緑色の光を発するLED(OSRAM社製、LTW5SN-KYLY-25)を用いた。第4の発光素子16として、中心波長632nmの赤色の光を発するLED(OSRAM社製、LRW5SN-JYKY-1)を用いた。

30

【0077】

また、第4の発光素子16(赤:632nm)、第3の発光素子14(緑:528nm)、第2の発光素子12(青:475nm)及び第1の発光素子10(紫:405nm)を、図7に示すシーケンス「1」、「2」、「3」、「4」、・・・の順に光量100%(定格出力)で繰り返し発光させた。なお、第1の発光素子10、第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16の各発光期間は、500msであった。図7において、「High」は、発光素子の出力が光量100%であることを意味し、「Low」は、発光素子の出力が光量28%以下であることを意味する。例えば、図7に示すシーケンス「1」では、第4の発光素子16を光量100%(High)で発光させ、第4の発光素子16以外の第1の発光素子10、第2の発光素子12及び第3の発光素子14を光量28%以下(Low)で発光させた。

40

【0078】

また、第1の発光素子10、第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16を、LED調光回路により図8に示す発光条件で発光させた。LED調光回路は、D/Aコンバータ制御により第1の発光素子10、第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16に流れる電流量を制御する回路であった。例えば、第4の発光素子16をHighで発光させた場合における投入電流は700mA、電圧は2.48V、消費電力は1.74W、光量は100%であった。また、第4の発光素子16をLowで発光させた場合における投入電流は100mA、電圧は1.9V、消費電力は0.19W、光量は15%であった。

50

## 【0079】

また、ダイクロイックミラー36として、図9に示す透過特性を有するマルチバンドパスタタイプのダイクロイックミラー（Semrock社製、FF409/493/573/652-Di01-25x36）を用いた。ダイクロイックミラー36は、12x18mmのサイズにカットしたものをを用いた。

## 【0080】

励起フィルタ34として、マルチバンドパスタタイプのフィルタ（Semrock社製、FF01-392/474/554/635-25）を用いた。吸収フィルタ40として、マルチバンドパスタタイプのフィルタ（Semrock社製、FF01-432/515/595/730-25）を用いた。励起フィルタ34及び吸収フィルタ40は、直径12mmにカットしたものをを用いた。

10

## 【0081】

第1のレンズ18、第2のレンズ20、第3のレンズ22及び第4のレンズ24として、平凸レンズ（Edmund社製、45-228）を用いた。第5のレンズ32、第6のレンズ38及び第7のレンズ42として、アクロマートレンズ（Edmund社製、65-549）を用いた。

## 【0082】

受光素子44として、フォトダイオード（Hamamatsu社製、S2386-44K）を用いた。受光素子44からの蛍光信号は、フォトセンサアンプ（Hamamatsu社製、C9329）により増倍率 $1E+7V/A$ で増幅させた後にA/D変換させ、蛍光信号の大きさを表す電圧値をパーソナルコンピュータに取り込んだ。

20

## 【0083】

試料4として、Q-Probeカラーコンペンセーションキット（日鉄住金環境社製）を用いた。マイクロチューブに蛍光試薬200 $\mu$ Lを注入し、励起光を蛍光試薬に照射して蛍光を検出した。Q-Probeを構成する第1の蛍光分子として紫色の光で励起するPacific Blue（以下、「色素B」ともいう）を用い、第2の蛍光分子として青色の光で励起するBODIPY-FL（以下、「色素G」ともいう）を用い、第3の蛍光分子として緑色の光で励起するTAMRA（以下、「色素R」ともいう）を用い、第4の蛍光分子として赤色の光で励起するATTO665（以下、「色素S」ともいう）を用いた。

30

## 【0084】

[1-4-2. 比較例]

比較例に係る蛍光検出器として、図1に示す蛍光検出器2'を用いた。

## 【0085】

第4の発光素子16（赤：632nm）、第3の発光素子14（緑：528nm）、第2の発光素子12（青：475nm）及び第1の発光素子10（紫：405nm）を、図10に示すシーケンス「1」、「2」、「3」、「4」、・・・の順に光量100%（定格出力）で繰り返し発光させた。なお、第1の発光素子10、第2の発光素子12、第3の発光素子14及び第4の発光素子16の各発光期間は、500msであった。図10において、「High」は、発光素子の出力が光量100%（定格出力）であることを意味し、「Off」は、発光素子の出力が光量0%（発光しない）であることを意味する。例えば、図10に示すシーケンス「1」では、第4の発光素子16を光量100%（High）で発光させ、第4の発光素子16以外の第1の発光素子10、第2の発光素子12及び第3の発光素子14の発光を完全にオフ（Off）させた。

40

## 【0086】

なお、比較例の上記以外の条件については、実施例と同一であるため、説明を省略する。

## 【0087】

[1-4-3. 結果]

実施例に係る蛍光検出器2による蛍光信号の検出結果は、図11及び図12に示す通り

50

であった。

【 0 0 8 8 】

図 1 1 及び図 1 2 から明らかなように、例えば、第 4 の発光素子 1 6 を光量 1 0 0 % で発光させた場合には、試料 4 に含まれる第 4 の蛍光分子（色素 S）が第 4 の発光素子 1 6 からの第 4 の励起光（赤色の光）で励起されることにより、第 4 の蛍光分子から発生する第 4 の蛍光の蛍光信号（電圧値）が大きくなった。このとき、第 4 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率を 1 0 0 . 0 % としたとき、試料 4 に含まれる第 1 の蛍光分子（色素 B）、第 2 の蛍光分子（色素 G）及び第 3 の蛍光分子（色素 R）からそれぞれ発生する第 1 の蛍光、第 2 の蛍光及び第 3 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率は 1 . 4 %、3 . 4 %、1 . 9 % であった。

10

【 0 0 8 9 】

また、第 3 の発光素子 1 4 を光量 1 0 0 % で発光させた場合には、試料 4 に含まれる第 3 の蛍光分子（色素 R）が第 3 の発光素子 1 4 からの第 3 の励起光（緑色の光）で励起されることにより、第 3 の蛍光分子から発生する第 3 の蛍光の蛍光信号が大きくなった。このとき、第 3 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率を 1 0 0 . 0 % としたとき、試料 4 に含まれる第 1 の蛍光分子（色素 B）、第 2 の蛍光分子（色素 G）及び第 4 の蛍光分子（色素 S）からそれぞれ発生する第 1 の蛍光、第 2 の蛍光及び第 4 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率は 9 . 7 %、2 6 . 4 %、0 . 7 % であった。

【 0 0 9 0 】

また、第 2 の発光素子 1 2 を光量 1 0 0 % で発光させた場合には、試料 4 に含まれる第 2 の蛍光分子（色素 G）が第 2 の発光素子 1 2 からの第 2 の励起光（青色の光）で励起されることにより、第 2 の蛍光分子から発生する第 2 の蛍光の蛍光信号が大きくなった。このとき、第 2 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率を 1 0 0 . 0 % としたとき、試料 4 に含まれる第 1 の蛍光分子（色素 B）、第 3 の蛍光分子（色素 R）及び第 4 の蛍光分子（色素 S）からそれぞれ発生する第 1 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率は 3 . 8 %、0 . 2 %、0 . 7 % であった。

20

【 0 0 9 1 】

また、第 1 の発光素子 1 0 を光量 1 0 0 % で発光させた場合には、試料 4 に含まれる第 1 の蛍光分子（色素 B）が第 1 の発光素子 1 0 からの第 1 の励起光（紫色の光）で励起されることにより、第 1 の蛍光分子から発生する第 1 の蛍光の蛍光信号が大きくなった。このとき、第 1 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率を 1 0 0 . 0 % としたとき、試料 4 に含まれる第 2 の蛍光分子（色素 G）、第 3 の蛍光分子（色素 R）及び第 4 の蛍光分子（色素 S）からそれぞれ発生する第 2 の蛍光、第 3 の蛍光及び第 4 の蛍光の蛍光信号のクロストーク比率は 0 . 8 %、0 . 0 %、1 . 5 % であった。

30

【 0 0 9 2 】

さらに、実施例及び比較例に係る蛍光検出器 2 , 2 ' による蛍光強度の検出結果は、図 1 3 に示す通りであった。

【 0 0 9 3 】

図 1 3 の ( a ) 及び ( c ) から明らかなように、実施例に係る蛍光検出器 2 では、検出される蛍光強度のピーク値にバラツキはほとんど生じず、蛍光強度の変動率は 0 . 2 % であった。

40

【 0 0 9 4 】

一方、図 1 3 の ( b ) 及び ( c ) から明らかなように、比較例に係る蛍光検出器 2 ' では、検出される蛍光強度のピーク値にはバラツキが生じ、蛍光強度の変動率は 4 . 1 % であった。

【 0 0 9 5 】

以上の結果より、実施例の蛍光検出器 2 では、試料 4 から安定した蛍光を発生させる効果が得られることが確認できた。

【 0 0 9 6 】

（実施の形態 2）

50

次に、図 1 4 及び図 1 5 を参照しながら、実施の形態 2 に係る蛍光検出器 2 A の構成について説明する。図 1 4 は、実施の形態 2 に係る蛍光検出器 2 A の構成を簡略的に示す図である。図 1 5 は、実施の形態 2 に係る蛍光検出器 2 A の受光素子 4 4 A を示す平面図である。

【 0 0 9 7 】

図 1 4 に示すように、実施の形態 2 に係る蛍光検出器 2 A では、受光素子 4 4 A はフィルタアレイ 4 8 を有している。図 1 5 に示すように、受光素子 4 4 A の受光面には、複数の画素 5 0 が行列状に配置されている。フィルタアレイ 4 8 は、複数の画素 5 0 にそれぞれ対応して配置された複数のフィルタセット 5 2 を有している。

【 0 0 9 8 】

複数のフィルタセット 5 2 の各々は、第 1 のフィルタ 5 2 a と、第 2 のフィルタ 5 2 b と、第 3 のフィルタ 5 2 c と、第 4 のフィルタ 5 2 d とを有している。第 1 のフィルタ 5 2 a は、第 1 の発光素子 1 0 が所定の定格出力で発光した際に、ダイクロイックミラー 3 6 を透過した第 1 の蛍光の波長帯域を制限する、いわゆるバンドパスタイプのフィルタである。第 2 のフィルタ 5 2 b は、第 2 の発光素子 1 2 が所定の定格出力で発光した際に、ダイクロイックミラー 3 6 を透過した第 2 の蛍光の波長帯域を制限する、いわゆるバンドパスタイプのフィルタである。第 3 のフィルタ 5 2 c は、第 3 の発光素子 1 4 が所定の定格出力で発光した際に、ダイクロイックミラー 3 6 を透過した第 2 の蛍光の波長帯域を制限する、いわゆるバンドパスタイプのフィルタである。第 4 のフィルタ 5 2 d は、第 4 の発光素子 1 6 が所定の定格出力で発光した際に、ダイクロイックミラー 3 6 を透過した第 4 の蛍光の波長帯域を制限する、いわゆるバンドパスタイプのフィルタである。

【 0 0 9 9 】

これにより、1 つの画素 5 0 に対して第 1 のフィルタ 5 2 a、第 2 のフィルタ 5 2 b、第 3 のフィルタ 5 2 c 及び第 4 のフィルタ 5 2 d が配置されているので、1 つの画素 5 0 で受光される蛍光のスペクトル幅を小さくすることができる。そのため、特定の蛍光分子から発生した蛍光による他の蛍光分子の励起を抑制することができる。

【 0 1 0 0 】

( 変形例 )

以上、一つ又は複数の態様に係る蛍光検出器及びその制御方法について、上記実施の形態に基づいて説明したが、本発明は、この実施の形態に限定されるものではない。本発明の趣旨を逸脱しない限り、当業者が思い付く各種変形を本実施の形態に施したものと、異なる実施の形態又は変形例における構成要素を組み合わせる構築される形態も、一つ又は複数の態様の範囲内に含まれてもよい。

【 0 1 0 1 】

上記各実施の形態では、第 1 の発光素子 1 0、第 2 の発光素子 1 2、第 3 の発光素子 1 4 及び第 4 の発光素子 1 6 をレーザダイオードで構成したが、これに限定されず、例えば LED 等で構成してもよい。

【 0 1 0 2 】

上記各実施の形態では、励起フィルタ 3 4 及び吸収フィルタ 4 0 の両方を配置したが、これに限定されず、励起フィルタ 3 4 及び吸収フィルタ 4 0 のいずれか一方のみを配置してもよく、あるいは、励起フィルタ 3 4 及び吸収フィルタ 4 0 の両方を省略してもよい。

【 0 1 0 3 】

上記各実施の形態では、第 1 の発光素子 1 0、第 2 の発光素子 1 2、第 3 の発光素子 1 4 及び第 4 の発光素子 1 6 の各定格出力を全て同一の出力 ( 光量 1 0 0 % ) としたが、これに限定されず、互いに異なる出力としてもよい。例えば、第 1 の発光素子 1 0 の第 1 の定格出力と、第 2 の発光素子 1 2 の第 2 の定格出力とが異なってもよい。

【 0 1 0 4 】

なお、上記各実施の形態において、各構成要素は、専用のハードウェアで構成されるか、各構成要素に適したソフトウェアプログラムを実行することによって実現されてもよい。各構成要素は、CPU 又はプロセッサ等のプログラム実行部が、ハードディスク又は半

10

20

30

40

50

導体メモリ等の記録媒体に記録されたソフトウェアプログラムを読み出して実行することによって実現されてもよい。

【0105】

また、以下のような場合も本発明に含まれる。

【0106】

(1) 上記の各装置は、具体的には、マイクロプロセッサ、ROM、RAM、ハードディスクユニット、ディスプレイユニット、キーボード、マウスなどから構成されるコンピュータシステムで実現され得る。RAM又はハードディスクユニットには、コンピュータプログラムが記憶されている。マイクロプロセッサが、コンピュータプログラムにしたがって動作することにより、各装置は、その機能を達成する。ここでコンピュータプログラムは、所定の機能を達成するために、コンピュータに対する指令を示す命令コードが複数個組み合わせられて構成されたものである。

10

【0107】

(2) 上記の各装置を構成する構成要素の一部又は全部は、1個のシステムLSI(Large Scale Integration:大規模集積回路)から構成されているとしてもよい。システムLSIは、複数の構成部を1個のチップ上に集積して製造された超多機能LSIであり、具体的には、マイクロプロセッサ、ROM、RAMなどを含んで構成されるコンピュータシステムである。ROMには、コンピュータプログラムが記憶されている。マイクロプロセッサが、ROMからRAMにコンピュータプログラムをロードし、ロードしたコンピュータプログラムにしたがって演算等の動作をすることにより、システムLSIは、その機能を達成する。

20

【0108】

(3) 上記の各装置を構成する構成要素の一部又は全部は、各装置に脱着可能なICカード又は単体のモジュールから構成されてもよい。ICカード又はモジュールは、マイクロプロセッサ、ROM、RAMなどから構成されるコンピュータシステムである。ICカード又はモジュールには、上記の超多機能LSIが含まれてもよい。マイクロプロセッサが、コンピュータプログラムにしたがって動作することにより、ICカード又はモジュールは、その機能を達成する。このICカード又はこのモジュールは、耐タンパ性を有してもよい。

【0109】

(4) 本発明は、上記に示す方法で実現されてもよい。また、これらの方法をコンピュータにより実現するコンピュータプログラムで実現してもよいし、コンピュータプログラムからなるデジタル信号で実現してもよい。

30

【0110】

また、本発明は、コンピュータプログラム又はデジタル信号をコンピュータ読み取り可能な記録媒体、例えば、フレキシブルディスク、ハードディスク、CD-ROM、MO、DVD、DVD-ROM、DVD-RAM、BD(Blu-ray(登録商標)Disc)、半導体メモリなどに記録したもので実現してもよい。また、これらの記録媒体に記録されているデジタル信号で実現してもよい。

【0111】

また、本発明は、コンピュータプログラム又はデジタル信号を、電気通信回線、無線又は有線通信回線、インターネットを代表とするネットワーク、データ放送等を経由して伝送してもよい。

40

【0112】

また、本発明は、マイクロプロセッサとメモリを備えたコンピュータシステムであって、メモリは、コンピュータプログラムを記憶しており、マイクロプロセッサは、コンピュータプログラムにしたがって動作してもよい。

【0113】

また、プログラム又はデジタル信号を記録媒体に記録して移送することにより、又はプログラム又はデジタル信号をネットワーク等を経由して移送することにより、独立した他

50

のコンピュータシステムにより実施するとしてもよい。

【0114】

(5) 上記実施の形態及び上記変形例をそれぞれ組み合わせるとしてもよい。

【産業上の利用可能性】

【0115】

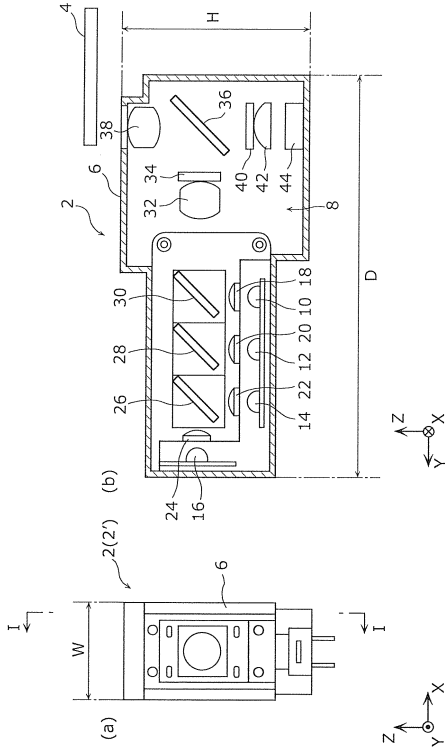
本発明の蛍光検出器の制御方法は、例えば試料に励起光を照射することにより、試料から発生した蛍光を検出する蛍光検出法等に適用することができる。

【符号の説明】

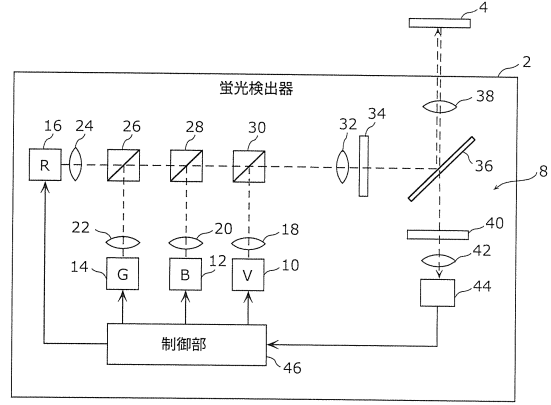
【0116】

2, 2', 2A	蛍光検出器	10
4	試料	
6	筐体	
8	光学系	
10	第1の発光素子	
12	第2の発光素子	
14	第3の発光素子	
16	第4の発光素子	
18	第1のレンズ	
20	第2のレンズ	
22	第3のレンズ	20
24	第4のレンズ	
26	第1のダイクロイックミラー	
28	第2のダイクロイックミラー	
30	第3のダイクロイックミラー	
32	第5のレンズ	
34	励起フィルタ	
36	ダイクロイックミラー	
38	第6のレンズ	
40	吸収フィルタ	
42	第7のレンズ	30
44, 44A	受光素子	
46	制御部	
48	フィルタアレイ	
50	画素	
52	フィルタセット	
52a	第1のフィルタ	
52b	第2のフィルタ	
52c	第3のフィルタ	
52d	第4のフィルタ	

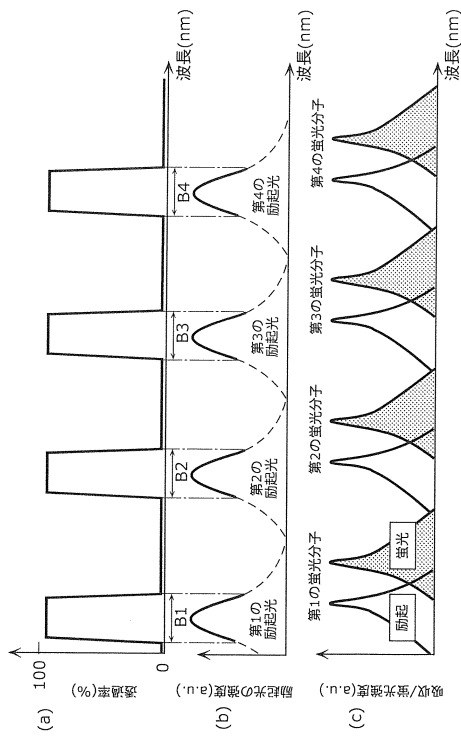
【図1】



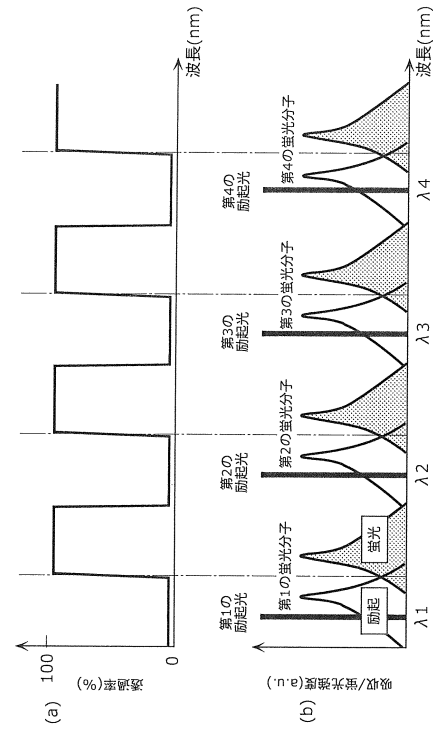
【図2】



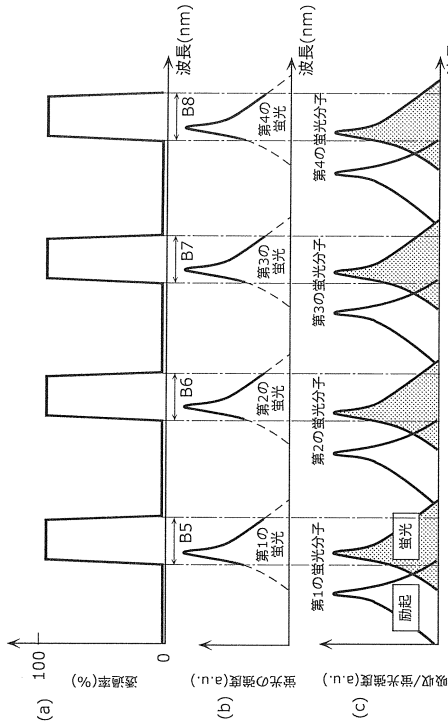
【図3】



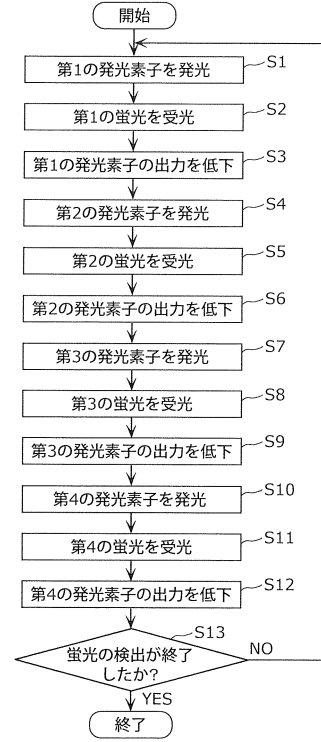
【図4】



【図5】



【図6】



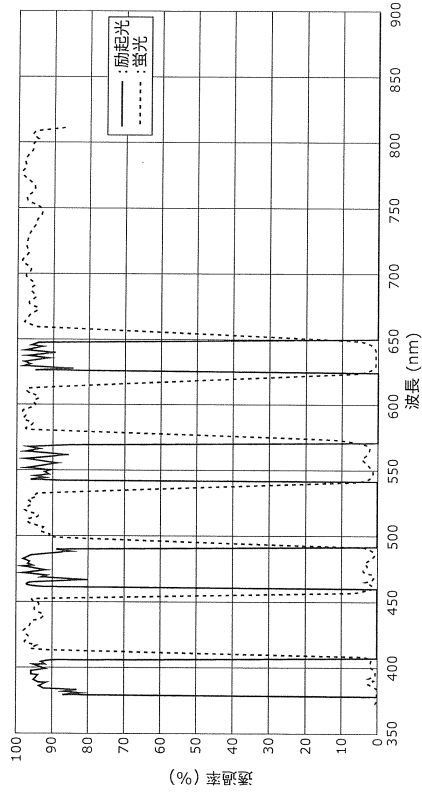
【図7】

シーケンス	蛍光素子	検出対象の蛍光分子に対する蛍光素子の出力(High/Low)			
		検出対象1:ATTO665	検出対象2:TAMRA	検出対象3:BODIPY-FL	検出対象4:Pacific Blue
1	赤:632nm	High	Low	Low	Low
2	緑:528nm	Low	High	Low	Low
3	青:475nm	Low	Low	High	Low
4	紫:405nm	Low	Low	Low	High
5	赤:632nm	High	Low	Low	Low
6	緑:528nm	Low	High	Low	Low
7	青:475nm	Low	Low	High	Low
8	紫:405nm	Low	Low	Low	High
...	...	...	...	...	...

【図8】

蛍光素子	High				Low			
	投入電流(mA)	電圧(V)	消費電力(W)	光量(%)	投入電流(mA)	電圧(V)	消費電力(W)	光量(%)
赤:632nm	700	2.48	1.74	100	100	1.9	0.19	15
緑:528nm	700	3.6	2.52	100	100	3	0.30	28
青:475nm	700	3.45	2.42	100	100	2.98	0.30	20
紫:405nm	700	3.7	2.59	100	100	3.2	0.32	15

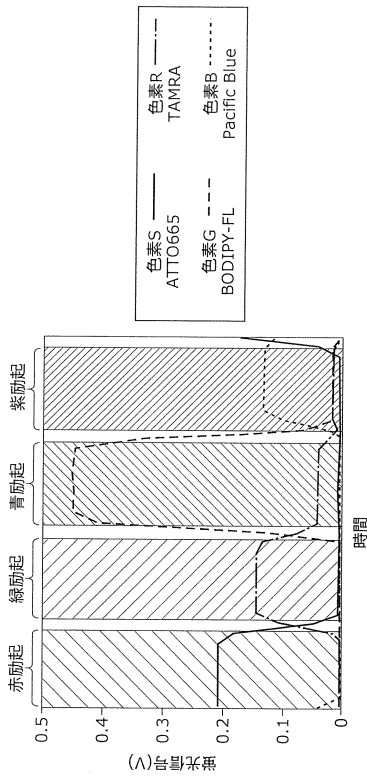
【図9】



【図10】

シーケンス	蛍光素子	検出対象の蛍光分子に対する蛍光素子の出力(High/Off)			
		検出対象1: ATTO665	検出対象2: TAMRA	検出対象3: BODIPY-FL	検出対象4: Pacific Blue
1	赤: 632nm	High	Off	Off	Off
2	緑: 528nm	Off	High	Off	Off
3	青: 475nm	Off	Off	High	Off
4	紫: 405nm	Off	Off	Off	High
5	赤: 632nm	High	Off	Off	Off
6	緑: 528nm	Off	High	Off	Off
7	青: 475nm	Off	Off	High	Off
8	紫: 405nm	Off	Off	Off	High
...	...	...	...	...	...

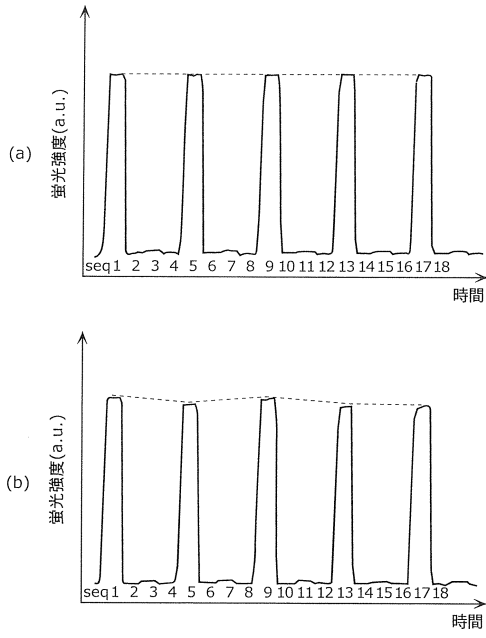
【図11】



【図12】

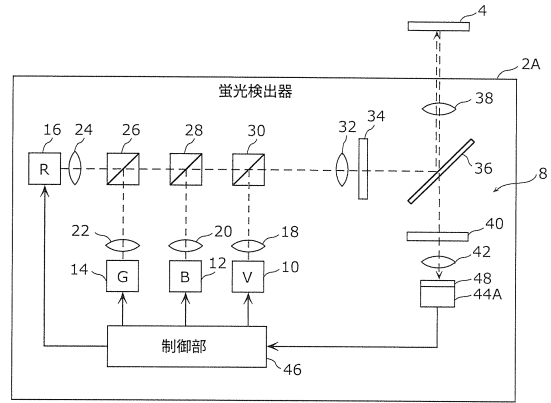
励起光	色素S		色素R		色素G		色素B	
	蛍光信号(V)	クロストーク比率(%)	蛍光信号(V)	クロストーク比率(%)	蛍光信号(V)	クロストーク比率(%)	蛍光信号(V)	クロストーク比率(%)
赤	0.207	100.0	0.001	0.7	0.003	0.7	0.002	1.5
緑	0.004	1.9	0.144	100.0	0.001	0.2	0	0.0
青	0.007	3.4	0.038	26.4	0.45	100.0	0.001	0.8
紫	0.003	1.4	0.014	9.7	0.017	3.8	0.132	100.0

【図13】

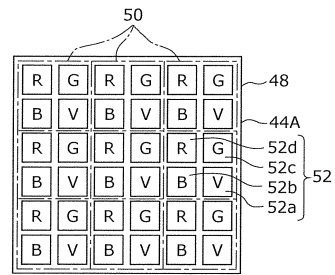


	実施例	比較例
(c) 蛍光強度変動率 (%)	0.2	4.1

【図14】



【図15】



---

フロントページの続き

審査官 吉田 将志

- (56)参考文献 特表2008-507719(JP,A)  
特開2001-258837(JP,A)  
特開昭60-072489(JP,A)  
国際公開第2015/185662(WO,A2)  
特表2017-529514(JP,A)  
特開2005-043255(JP,A)  
国際公開第2009/001390(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 21/62-74