

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017年5月18日(18.05.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/082218 A1

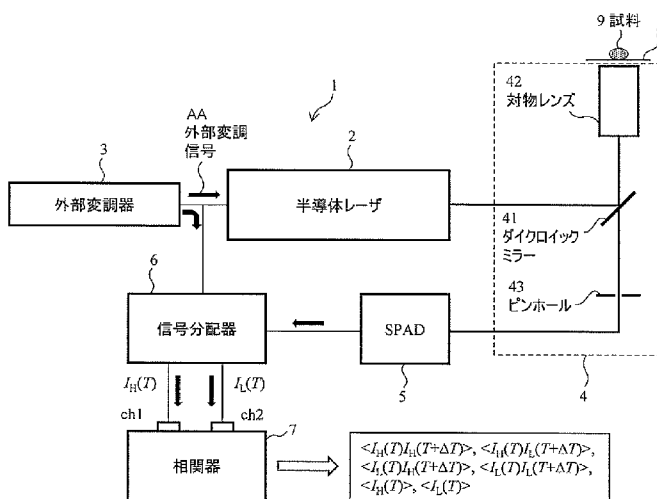
- (51) 国際特許分類:
G01J 1/42 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)
G01N 21/27 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/083010
- (22) 国際出願日: 2016年11月8日(08.11.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2015-219557 2015年11月9日(09.11.2015) JP
- (71) 出願人: 国立研究開発法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 Saitama (JP).
- (72) 発明者: 石井 邦彦 (ISHII Kunihiro); 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP). 田原 太平 (TAHARA Tahei); 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI Yusuke et al.); 〒1056232 東京都港区愛宕2丁目5番1号 愛宕グリーンヒルズMORIタワー32階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

[続葉有]

(54) Title: PHOTON DETECTION DEVICE, PHOTON DETECTION METHOD, FLUORESCENCE CORRELATION SPECTROSCOPY DEVICE, FLUORESCENCE CROSS-CORRELATION SPECTROSCOPY DEVICE, DYNAMIC LIGHT SCATTERING DEVICE, AND FLUORESCENCE MICROSCOPE

(54) 発明の名称: 光子検出装置、光子検出方法、蛍光相関分光測定装置、蛍光相互相関分光測定装置、動的光散乱測定装置、及び、蛍光顕微鏡

図 1



- 2 Semiconductor laser
3 External modulator
6 Signal splitter
7 Correlator
9 Specimen
41 Dichroic mirror
42 Objective
43 Pinhole
AA External modulation signal

(57) Abstract: A photon detection device is provided with: a semiconductor laser for outputting laser light while the intensity thereof is moderated in accordance with a modulation signal; a single photon detector in which an avalanche diode is used as a light-receiving element; an optical system for irradiating a specimen with the laser light, the optical system being configured such that light from the specimen is guided to the single photon detector; a signal splitter for splitting the pulse signal from the single photon detector into a plurality of outputs in synchronization with the modulation signal; and a correlator for calculating a correlation function on the basis of the plurality of outputs from the signal splitter.

(57) 要約: 光子検出装置は、変調信号に従って強度変調しながらレーザ光を出力する半導体レーザと、アバランシェダイオードを受光素子とする単一光子検出器と、前記レーザ光を試料に照射し、前記試料からの光を前記単一光子検出器に導くように構成された光学系と、前記変調信号に同期して、前記単一光子検出器からのパルス信号を複数の出力に分配する信号分配器と、前記信号分配器からの前記複数の出力に基づいて相関関数を計算する相関器と、を備える。



ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, 添付公開書類:

MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,

GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

光子検出装置、光子検出方法、蛍光相関分光測定装置、蛍光相互相関分光測定装置、動的光散乱測定装置、及び、蛍光顕微鏡

技術分野

[0001] 本発明は、光子検出装置、光子検出方法、蛍光相関分光測定装置、蛍光相互相関分光測定装置、動的光散乱測定装置、及び、蛍光顕微鏡に関する。

背景技術

[0002] 光子相関計測法は、試料溶液中の粒子のサイズの測定や分子間相互作用の検出に広く用いられている。例えば、光子相関計測法としては、蛍光相関分光法（Fluorescence correlation spectroscopy：F C S）や動的光散乱法（Dynamic Light Scattering：D L S）などがある。

[0003] 光子相関計測法においては、試料溶液からの蛍光（F C S）や光散乱（D L S）に由来する光子信号を時系列に計測し、その時間揺らぎに基づいて様々な物理量を求める。光子相関計測法においては、上記の時間揺らぎを定量化するために、時間相関関数を用いる。ある時間間隔 ΔT を伴って検出される2つの光子の対を専用ハードウェアあるいは専用ソフトウェアで計数し、平均光強度で規格化することで ΔT における相関信号を求める（式1）。

[0004] [数1]

$$G(\Delta T) = \frac{\langle I(T)I(T+\Delta T) \rangle}{\langle I(T) \rangle^2} \quad (1)$$

ここで、 $I(T)$ は、時刻 T での光強度を表し、 $\langle \dots \rangle$ は、時間平均を表す。

先行技術文献

非特許文献

[0005] 非特許文献1：H. C. Burstyn and J. V. Sengers, “Time dependence of cr

ritical concentration fluctuations in a binary liquid” , Phys. Rev. A 27(2), 1071-1085 (1983)

非特許文献2：石井邦彦・田原太平、「時間反転対称性を利用した蛍光相関分光における偽信号の除去」、第6回分子科学討論会要旨1P-086、2012年7月17日

非特許文献3：J. Enderlein and I. Gregor, “Using fluorescence lifetime for discriminating detector afterpulsing in fluorescence correlation spectroscopy” , Rev. Sci. Instrum. 76(3), 033102 (2005)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 光子相関計測法では、光子検出器として、単一光子アバランシェダイオード（以下、SPAD）が広く採用されている。SPADは、光子を検知すると、光子1個につき1つの電圧パルスを出力する。しかしながら、SPADは、光子を検知して電圧パルスを出力した後、数マイクロ秒以内に、ある確率で2つ目の電圧パルス（以下、アフターパルス）を出力する。アフターパルスは、数マイクロ秒の時間領域の相関信号に大きな影響を与える。したがって、SPADを用いた光子相関計測においては、SPADのアフターパルス現象による偽の相関信号が問題となる。

[0007] 従来の光子相関計測において、特にアフターパルスの影響を回避する必要があるときは、検出器を2台使い、それらの信号の相互相関を計算する方法が一般的であった（非特許文献1）。しかしながら、非特許文献1の従来法では、検出器が2台必要であることからコストがかかり、また、光学系が複雑になるという課題があった。さらに、上記のように異なる検出器で検出された光子対のみを使用することから、同じ検出器で検出された光子対の情報（全光子対の50%）を捨てることになり、信号雑音比が低下するという課題がある。

[0008] 上記のアフターパルスの偽信号の除去に関し、本願の発明者らは、パルスレーザーと時間相関光子係数法（Time Correlated Single Photon Counting

: TCSPC) を用いて相関信号の時間反転対称性を解析する方法を報告した(非特許文献2)。しかしながら、非特許文献2の方法では、高価なパルスレーザー装置とTCSPC装置が必要となるため、測定装置全体のコストが増大するという課題があり、通常の光子相関計測への応用は現実的ではなかった。

[0009] また、非特許文献3では、パルスレーザーとTCSPCを用いて、アフターパルス信号と蛍光信号の時間挙動の違いからアフターパルスの影響を評価している。非特許文献3の方法も、非特許文献2の方法と同様に、測定装置全体のコストが増大するという課題がある。

[0010] 本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、より簡易な構成でアフターパルス現象による偽信号の影響を除去することが可能な技術を提供する。

課題を解決するための手段

[0011] 上記課題を解決するために、例えば請求の範囲に記載の構成を採用する。本願は上記課題を解決する手段を複数含んでいるが、その一例を挙げるならば、変調信号に従って強度変調しながらレーザー光を出力する半導体レーザーと、アバランシェダイオードを受光素子とする単一光子検出器と、前記レーザー光を試料に照射し、前記試料からの光を前記単一光子検出器に導くように構成された光学系と、前記変調信号に同期して、前記単一光子検出器からのパルス信号を複数の出力に分配する信号分配器と、前記信号分配器からの前記複数の出力に基づいて相関関数を計算する相関器と、を備える光子検出装置が提供される。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、より簡易な構成でアフターパルス現象による偽信号の影響を除去することができる。本発明に関連する更なる特徴は、本明細書の記述、添付図面から明らかになるものである。また、上記した以外の、課題、構成および効果は、以下の実施例の説明により明らかにされる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]本発明の光子検出装置の一実施例の構成図である。

[図2A]レーザ光による励起と、それによって得られる信号光子列を示す図である。

[図2B]アフターパルスの影響を含まない真の蛍光相関信号と、アフターパルスの由来の相関信号の時間反転対称性を説明する図である。

[図3]光子検出装置での処理の流れを示すフローチャートである。

[図4]半導体レーザにおける強度変調と、その強度変調に応じた信号光強度の時間揺らぎの計測とを説明する図である。

[図5]信号分配器の第1の例を示す図である。

[図6]信号分配器の第2の例を示す図である。

[図7]信号分配器の第3の例を示す図である。

[図8]アルミホイルの表面からの散乱光を観測した実験例を示すグラフである。

[図9]B S A（ウシ血清アルブミン）の水溶液からの散乱光を測定した実験例を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0014] 以下、添付図面を参照して本発明の実施例について説明する。なお、添付図面は本発明の原理に則った具体的な実施例を示しているが、これらは本発明の理解のためのものであり、決して本発明を限定的に解釈するために用いられるものではない。

[0015] 図1は、本発明の光子検出装置の一実施例の構成図である。図1は、本発明の光子検出装置を蛍光相関分光（FCS）測定装置に適用した例を示す。光子検出装置1は、半導体レーザ（レーザ光源）2と、外部変調器3と、光学系4と、SPAD5と、信号分配器6と、相関器7とを備える。

[0016] 半導体レーザ2は、連続的にレーザ光を出すCWレーザ（Continuous wave laser）である。外部変調器3は、外部変調信号を半導体レーザ2及び信号分配器6へ出力する。外部変調器3は、半導体レーザ2のレーザ光を強度変調するために使用されており、例えば、数十MHz程度の周波数で変調が可

能なものであればよい。半導体レーザ 2 は、外部変調器 3 からの外部変調信号に従って強度変調しながらレーザ光を出力する。

[0017] 光学系 4 は、半導体レーザ 2 からのレーザ光を試料台 8 に載置された試料 9 に照射し、試料 9 からの光を S P A D 5 に導くように構成されている。光学系 4 は、ダイクロイックミラー 4 1 と、対物レンズ 4 2 と、ピンホール 4 3 とを備える。なお、図 1 の光学系 4 に関しては主要な構成要素のみを示しており、これ以外に他の構成要素（ミラー、レンズなど）を含んでもよい。

[0018] ダイクロイックミラー 4 1 は、半導体レーザ 2 からのレーザ光（励起光）を反射して、試料 9 からの蛍光（例えば、励起光で励起される蛍光色素からの蛍光）を透過する光学特性を有する。半導体レーザ 2 から出たレーザ光は、ダイクロイックミラー 4 1 で反射し、その後、対物レンズ 4 2 に入射する。対物レンズ 4 2 の焦点位置には、試料 9 が配置されている。試料 9 から発した蛍光は、再び対物レンズ 4 2 を介してダイクロイックミラー 4 1 に達する。当該蛍光は、ダイクロイックミラー 4 1 を通過し、ピンホール 4 3 を経たのち、S P A D 5 に導かれる。

[0019] S P A D 5 は、アバランシェダイオードを受光素子とする単一光子検出器である。S P A D 5 は、上述の通り、光子を検知すると光子 1 個につき 1 つの電圧パルスを出力する。S P A D 5 は、ピンホール 4 3 を経て受光した光に応じて、パルス信号を信号分配器 6 に出力する。

[0020] 信号分配器 6 は、S P A D 5 からのパルス信号を 2 つの出力に分配する。より具体的には、信号分配器 6 は、外部変調器 3 からの外部変調信号に同期して、S P A D 5 からのパルス信号を 2 つの出力に分配し、それら 2 つの出力を相関器 7 の 2 つのチャンネル（c h 1、c h 2）の各々に入力する。

[0021] 相関器 7 は、2 つのチャンネル（c h 1、c h 2）に入力された信号に基づいて相関関数を計算する。相関器 7 における処理は、例えば集積回路で設計する等によりハードウェアで実現されてもよい。また、別の例として、相関器 7 における処理は、プロセッサがその処理に対応するプログラムを解釈し、実行することによりソフトウェアで実現されてもよい。

[0022] 次に、アフターパルス現象による偽信号を除去する原理について説明する。図2Aは、レーザ光による励起と、それによって得られる信号光子列を示す。光強度の変化（時間揺らぎ）を、時刻（マクロタイム、 T ）と励起後の遅延時間（マイクロタイム、 t ）の関数 $I(T; t)$ として表す。ある時刻 T の蛍光信号強度 $I(T)$ とそこから ΔT 経過した時点での t に依存する蛍光強度 $I(T + \Delta T; t)$ の間の相関関数を考える。

[0023] ここで、アフターパルスの影響を含まない真の蛍光相関信号と、アフターパルスの由来の相関信号の時間反転対称性について説明する。図2Bは、これらの時間反転対称性を簡単に説明する図である。本願発明者らが非特許文献2で報告している通り、アフターパルスの影響を含まない真の蛍光相関関数は、系が平衡状態にある場合、時間反転 $\Delta T \rightarrow -\Delta T$ に対して対称になる。一方、アフターパルスの由来の相関関数は、時間反転 $\Delta T \rightarrow -\Delta T$ に対して非対称な t 依存性を示す。

[0024] 本発明は、上述の時間対称性を利用して相関信号に対するアフターパルス現象の影響の大きさを判定するものである。これにより、アフターパルス現象による偽信号を除去した正確な相関計測を行うことが可能になる。

[0025] 次に、図1の光子検出装置1の処理の流れについて説明する。図3は、光子検出装置1での処理の流れを示すフローチャートである。

[0026] 半導体レーザ2は、強度変調しながらレーザ光を出力する（ステップ301）。図4の上側の図は、横軸を時間 T 、縦軸をレーザの強度とした図であり、半導体レーザ2における強度変調を説明する図である。半導体レーザ2は、外部変調器3からの外部変調信号に従って、第1の強度（High）と第2の強度（Low）との間で強度変調をしながらレーザを出力する。

[0027] 次に、SPAD5及び信号分配器6を用いて、強度変調に同期して、光強度の時間揺らぎ $I_H(T)$ 、 $I_L(T)$ を別々に計測する（ステップ302）。図4の下側の図は、横軸を時間 T 、縦軸を光強度 $I(T)$ とした図であり、信号光強度の時間揺らぎの計測を説明する図である。図4の下側の図の実線は、SPAD5から出力されるパルス信号を示す。符号401の点線で囲

まれた部分は、半導体レーザ2の出力が第1の強度（H i g h）のときの光強度に対応し、符号402の点線で囲まれた部分は、半導体レーザ2の出力が第2の強度（L o w）のときの光強度に対応する。ここでは、半導体レーザ2の出力が第1の強度（H i g h）のときの光強度の時間揺らぎを $I_H(T)$ と定義し、半導体レーザ2の出力が第2の強度（L o w）のときの光強度の時間揺らぎを $I_L(T)$ と定義する。なお、ここでは、第1の強度が第2の強度より大きい例を示すが、これに限定されない。本発明において「第1の強度」、「第2の強度」と表現する場合、これらは単に強度が異なることを表しており、強度の大小が逆であってもよい。

[0028] 信号分配器6には、外部変調器3からの外部変調信号と、SPAD5からのパルス信号が入力される。信号分配器6は、外部変調器3からの外部変調信号に同期して、第1の強度（H i g h）に対応する光強度の時間揺らぎ $I_H(T)$ を相関器7のチャンネル（c h 1）に出力し、第2の強度（L o w）に対応する光強度の時間揺らぎ $I_L(T)$ を相関器7のチャンネル（c h 2）に出力する。

[0029] 相関器7は、ある時刻Tの蛍光信号強度 $I(T)$ とそこから ΔT 経過した時点での蛍光強度 $I(T + \Delta T)$ の間の相関関数 $G(\Delta T)$ を計算する（ステップ303）。相関器7は、 $\langle I_H(T) I_H(T + \Delta T) \rangle$ 、 $\langle I_H(T) I_L(T + \Delta T) \rangle$ 、 $\langle I_L(T) I_H(T + \Delta T) \rangle$ 、 $\langle I_L(T) I_L(T + \Delta T) \rangle$ 、 $\langle I_H(T) \rangle$ 、 $\langle I_L(T) \rangle$ を求めることによって、相関関数 $G(\Delta T)$ を計算する。ここで、 $\langle \dots \rangle$ は、上述の通り、時間平均を表す。

[0030] より詳細には、相関器7は、以下の式（2）に従って、相関関数 $G(\Delta T)$ を計算する。

[数2]

$$G(\Delta T) = \frac{\langle I_H(T) I_H(T + \Delta T) \rangle + \langle I_H(T) I_L(T + \Delta T) \rangle + \langle I_L(T) I_H(T + \Delta T) \rangle + \langle I_L(T) I_L(T + \Delta T) \rangle}{\{\langle I_H(T) \rangle + \langle I_L(T) \rangle\}^2} - \frac{2\{\langle I_H(T) I_L(T + \Delta T) \rangle - \langle I_L(T) I_H(T + \Delta T) \rangle\}}{\{\langle I_H(T) \rangle + \langle I_L(T) \rangle\}\{\langle I_H(T) \rangle - \langle I_L(T) \rangle\}} \quad (2)$$

[0031] 式(2)の右辺において、第1項は通常の相関信号に対応する項であり、第2項はアフターパルスの寄与項である。したがって、本実施例によれば、アフターパルスの偽信号の時間非対称性の大きさを評価することでアフターパルスの影響の大きさを求め、通常の相関信号からアフターパルスの影響の大きさを差し引くことで、正確な相関計測を行うことができる。

[0032] 次に、信号分配器6の構成について説明する。図5は、信号分配器の第1の例を示す。信号分配器6は、論理演算回路によって構成されており、第1のAND回路61と、第2のAND回路62と、NOT回路63とを備える。

[0033] SPAD5の出力が、第1のAND回路61の一方の入力端子に入力され、外部変調器3からの外部変調信号が、第1のAND回路61の他方の入力端子に入力される。したがって、第1のAND回路61の出力は、第1の強度(High)のときの光強度の時間揺らぎ $I_H(T)$ に対応する。

[0034] また、SPAD5の出力が、第2のAND回路62の一方の入力端子に入力され、外部変調器3からの外部変調信号が、NOT回路63の入力端子に入力され、NOT回路63の出力が、第2のAND回路62の他方の入力端子に入力される。したがって、第2のAND回路62の出力は、第2の強度(Low)のときの光強度の時間揺らぎ $I_L(T)$ に対応する。図5の構成の場合、相関器7における相関関数の計算式は、式(2)と同様である。

[0035] 図6は、信号分配器6の第2の例を示す。信号分配器6は、AND回路64を備える。SPAD5の出力が、相関器7のチャンネル(ch1)に直接入力される。したがって、チャンネルch1には、第1の強度(High)と第2の強度(Low)の両方の場合の光強度の時間揺らぎ $I_{H+L}(T)$ が入力されることになる。

[0036] また、SPAD5の出力が、AND回路64の一方の入力端子に入力され、外部変調器3からの外部変調信号が、AND回路64の他方の入力端子に入力される。したがって、AND回路64の出力は、第1の強度(High)のときの光強度の時間揺らぎ $I_H(T)$ に対応する。図6の構成によれば、

信号分配器 6 を、より簡易な回路で構成することができる。

[0037] 図 6 の構成の場合、相関器 7 における相関関数の計算式は、以下の式 (3) のようになる。

[数3]

$$G(\Delta T) = \frac{\langle I_1(T)I_1(T+\Delta T) \rangle}{\langle I_1(T) \rangle^2} - \frac{2\{\langle I_2(T)I_1(T+\Delta T) \rangle - \langle I_1(T)I_2(T+\Delta T) \rangle\}}{\langle I_1(T) \rangle \{2\langle I_2(T) \rangle - \langle I_1(T) \rangle\}} \quad (3)$$

ここで、 $I_1(T)$ は、相関器 7 のチャンネル (ch 1) に入力された光強度を表し、 $I_2(T)$ は、相関器 7 のチャンネル (ch 2) に入力された光強度を表す。

[0038] 図 7 は、信号分配器 6 の第 3 の例を示す。信号分配器 6 は、NOT 回路 65 と、AND 回路 66 とを備える。SPAD 5 の出力が、相関器 7 のチャンネル (ch 1) に直接入力される。したがって、チャンネル ch 1 には、第 1 の強度 (High) と第 2 の強度 (Low) の両方の場合の光強度の時間揺らぎ $I_{H+L}(T)$ が入力されることになる。

[0039] また、SPAD 5 の出力が、AND 回路 66 の一方の入力端子に入力され、外部変調器 3 からの外部変調信号が、NOT 回路 65 の入力端子に入力され、NOT 回路 65 の出力が、AND 回路 66 の他方の入力端子に入力される。したがって、AND 回路 66 の出力は、第 2 の強度 (Low) のときの光強度の時間揺らぎ $I_L(T)$ に対応する。図 7 の構成の場合、相関器 7 における相関関数の計算式は、式 (3) と同様である。

[0040] 上述では、信号分配器 6 の 3 つの例を説明したが、信号分配器 6 の構成はこれらに限定されない。信号分配器 6 が外部変調信号に同期して SPAD 5 からのパルス信号を相関器 7 の各チャンネルに分配できればよく、パルス信号の分配機能の実現できるならば他の構成でもかまわない。また、相関関数の計算式も上述したものに限定されず、適宜変更されてよい。

[0041] 図 8 及び図 9 は、実験結果を示すグラフである。当該実験において、半導体レーザ 2 として Coherent 社製の OBIS 488 LX を使用し

た。また、SPAD5としてIDQ (ID Quantique) 社製のシングルフォトンディテクタ (id100-20) を使用した。また、National Instruments社製のPCI-6602によって、レーザ変調のための信号の出力 (外部変調器3に相当)、及び、シングルフォトンディテクタからの信号の記録を行った。PCI-6602に接続したPC (Personal Computer) によって信号分配器6及び相関器7の機能を実装し、PCI-6602に記録された信号の分配及び相関関数の計算を行った。なお、相関器7での計算は、上述の式(2)に従って行った。

[0042] 図8は、参照試料としてアルミホイルを使用し、アルミホイルの表面からの散乱光を観測した結果を示す。なお、当該実験において、レーザ強度はピークパワーで5 μ Wになるまで減光し、図8のグラフは、約10秒の測定を10回繰り返した結果の平均を示す。参照試料での実験に関して、アフターパルスの影響がない場合、相関がない (Correlation = 1) ことが期待されるが、ほぼ期待通りの結果となった。

[0043] 図9は、試料9としてBSA (ウシ血清アルブミン) の0.4 mg/mL水溶液を使用し、BSAの水溶液からの散乱光を測定した結果を示す。当該実験において、レーザ強度のピークパワーは25 mWであり、図9のグラフは、約12秒の測定を9回繰り返した結果の平均を示す。図9に示すように、アフターパルス除去を適用した後に本来期待される相関信号が観測できた。当該実験結果から、1台の検出器のみを用いてアフターパルス現象による偽信号の影響を除去できることが確認できた。

[0044] 上述した実施例の効果について説明する。従来では、2台の検出器を用いる構成 (非特許文献1) であったため、コストがかかり、光学系が複雑になるという課題があった。また、従来では、検出器で検出された光子対の情報の利用効率が低い (50%) という課題もあった。これに対して、本実施例では、1台の検出器 (SPAD) でアフターパルス現象による偽信号の影響を除去することができる。また、検出器で検出された光子対の情報の利用効率も向上し、信号雑音比が低下するという課題を解決することができる。

[0045] また、従来では、高価なパルスレーザー装置とTCSPC装置を用いる構成（非特許文献2）であったため、測定装置全体のコストが増大するという課題があった。これに対して、上述の実施例によれば、光子検出装置1が安価なCW半導体レーザと通常の相関器から構成されるので、低コストかつ簡易な構成によって、アフターパルス現象による偽信号の影響を除去することができる。

[0046] また、光子相関計測では、SPAD以外の検出器（光電子増倍管（PMT）、ハイブリッド検出器（HPD））を使う場合もあり得る。PMTはアフターパルスの確率が低く、また、HPDはアフターパルスをほぼ無視できるが、これらの最高感度はSPADに及ばない。本実施例では、アフターパルス現象による偽信号の影響を除去することができるため、感度に優れたSPADを利用することが可能となる。

[0047] なお、本発明は上述した実施例に限定されるものではなく、様々な変形例が含まれる。例えば、上述した実施例は本発明を分かりやすく説明するために詳細に説明したものであり、必ずしも説明した全ての構成を備えるものに限定されるものではない。また、実施例の構成の一部について、他の構成の追加・削除・置換をすることが可能である。

[0048] 上述では、本発明の光子検出装置をFCSに適用した例を示したが、本発明の光子検出装置は、蛍光相互相関分光（FCCS）測定装置に適用されてもよい。また、本発明の光子検出装置は、動的光散乱（DLS）測定装置に適用されてもよい。また、本発明の光子検出装置は、蛍光顕微鏡に適用されてもよい。さらに、本発明の光子検出装置は、上記以外の他の装置に適用されてもよい。なお、光学系4の構成は、適用する装置に応じて適宜変更されてよい。

[0049] なお、本発明をFCCSに適用した場合、以下の利点がある。FCCSでは、相互作用する分子ごとに異なる蛍光色素で標識して観察するため、通常、蛍光色素の数だけ光子検出装置を要する。上述のように、本発明の光子検出装置は、1台の光子検出器（SPAD）でアフターパルス現象による偽信

号の影響を除去できることから、FCCSにおいては、非特許文献1の従来法に対して、本発明の光子検出装置を備えていることの優位性は一層大きい。

[0050] 上述では、半導体レーザ2の出力をHighとLowの2段に変調したが、これより多い多段変調にしてもよい。この場合、信号分配器6が強度変調に従ってSPAD5からのパルス信号を複数の出力（3つ以上の出力）に分配し、かつ、信号分配器6の分配数に合わせて相関器7のチャンネル数を増やせばよい。

[0051] 例えば、入力部分にゲートを備えた相関器が提供されるならば、上述した信号分配器の機能を相関器で兼ねることも可能である。この場合、図1等に記載した信号分配器6を省略することも可能である。

符号の説明

- [0052] 1 光子検出装置
- 2 半導体レーザ（レーザ光源）
- 3 外部変調器
- 4 光学系
- 6 信号分配器
- 7 相関器
- 8 試料台
- 9 試料
- 41 ダイクロイックミラー
- 42 対物レンズ
- 43 ピンホール

請求の範囲

- [請求項1] 変調信号に従って強度変調しながらレーザ光を出力する半導体レーザと、
アバランシェダイオードを受光素子とする単一光子検出器と、
前記レーザ光を試料に照射し、前記試料からの光を前記単一光子検出器に導くように構成された光学系と、
前記変調信号に同期して、前記単一光子検出器からのパルス信号を複数の出力に分配する信号分配器と、
前記信号分配器からの前記複数の出力に基づいて相関関数を計算する相関器と、
を備える光子検出装置。
- [請求項2] 請求項1に記載の光子検出装置において、
前記半導体レーザは、第1の強度と第2の強度との間で強度変調をしながら前記レーザ光を出力し、
前記信号分配器は、前記単一光子検出器からのパルス信号を、前記第1の強度のときのパルス信号である第1の出力と、前記第2の強度のときのパルス信号である第2の出力とに分配することを特徴とする光子検出装置。
- [請求項3] 請求項1に記載の光子検出装置において、
前記半導体レーザは、第1の強度と第2の強度との間で強度変調をしながら前記レーザ光を出力し、
前記信号分配器は、前記単一光子検出器からのパルス信号を、前記第1の強度及び前記第2の強度のときのパルス信号である第1の出力と、前記第1の強度のときのパルス信号である第2の出力とに分配することを特徴とする光子検出装置。
- [請求項4] 請求項1から3のいずれか一項に記載の光子検出装置を備える蛍光相関分光測定装置。
- [請求項5] 請求項1から3のいずれか一項に記載の光子検出装置を備える蛍光

相互相関分光測定装置。

[請求項6] 請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の光子検出装置を備える動的
光散乱測定装置。

[請求項7] 請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の光子検出装置を備える蛍光
顕微鏡。

[請求項8] 半導体レーザにより、変調信号に従って強度変調しながらレーザ光
を出力するステップと、

光学系により、前記レーザ光を試料に照射し、前記試料からの光を
、アバランシェダイオードを受光素子とする単一光子検出器に導くス
テップと、

前記単一光子検出器により、前記試料からの光を検出するステップ
と、

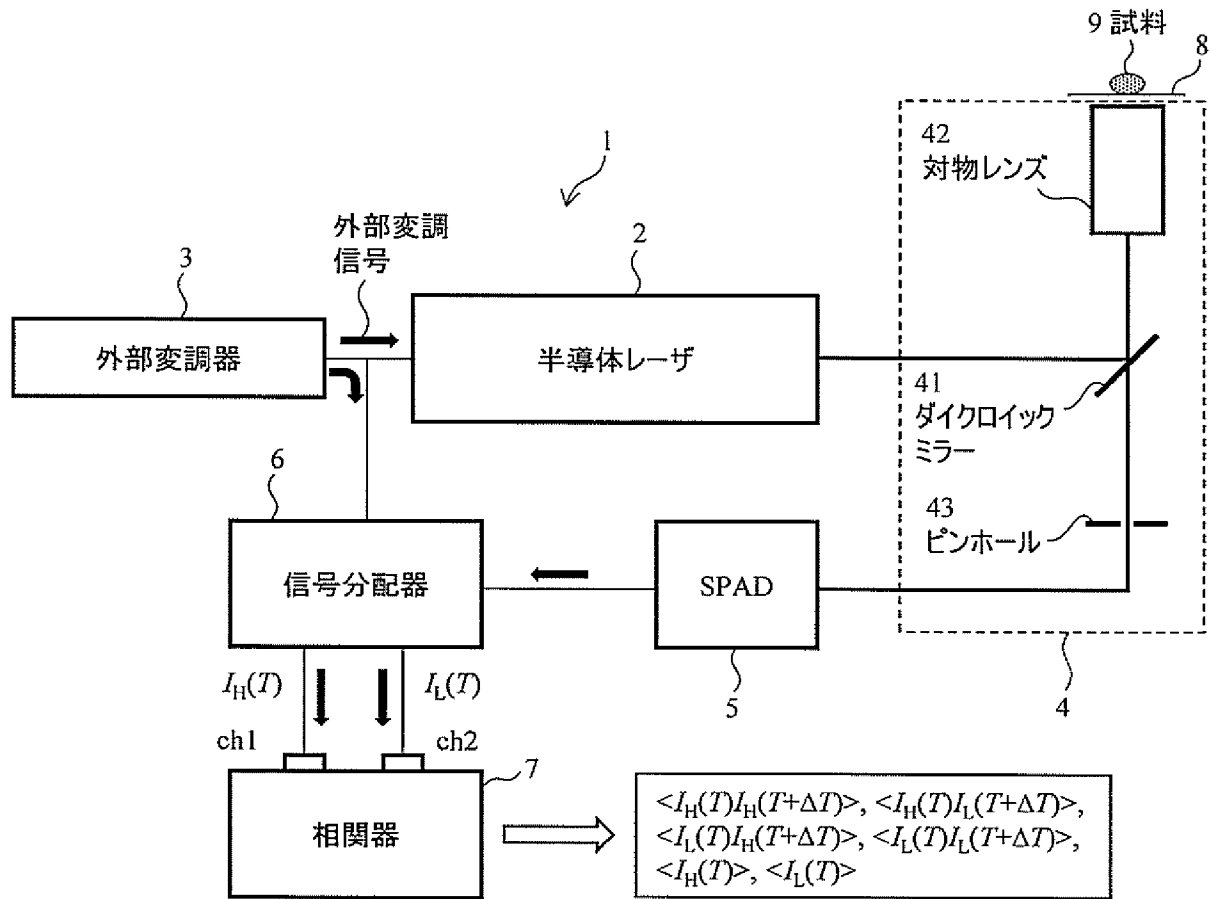
信号分配器により、前記変調信号に同期して、前記単一光子検出器
からのパルス信号を複数の出力に分配するステップと、

相関器により、前記信号分配器からの前記複数の出力に基づいて相
関関数を計算するステップと、

を含む光子検出方法。

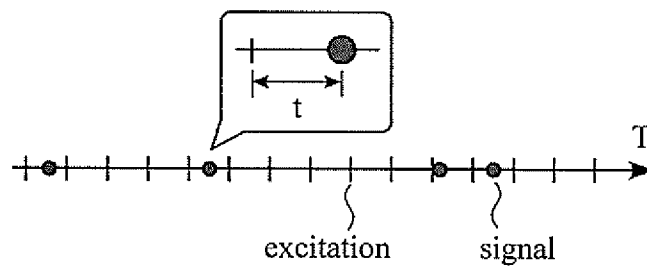
[図1]

図 1



[図2A]

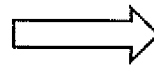
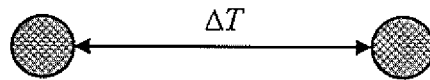
図 2 A



[図2B]

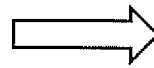
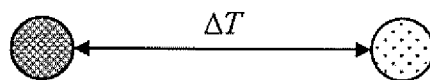
図 2 B

真の蛍光相関信号



時間的に対称

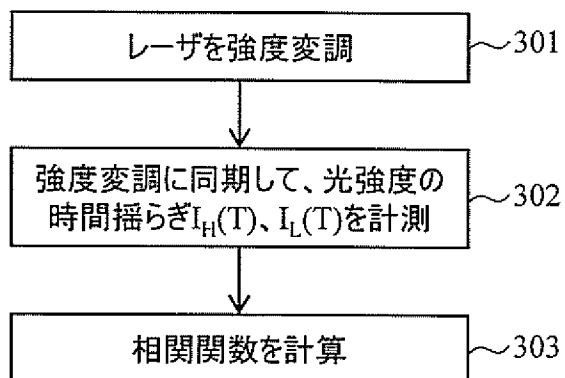
アフターパルスによる相関信号



時間的に非対称

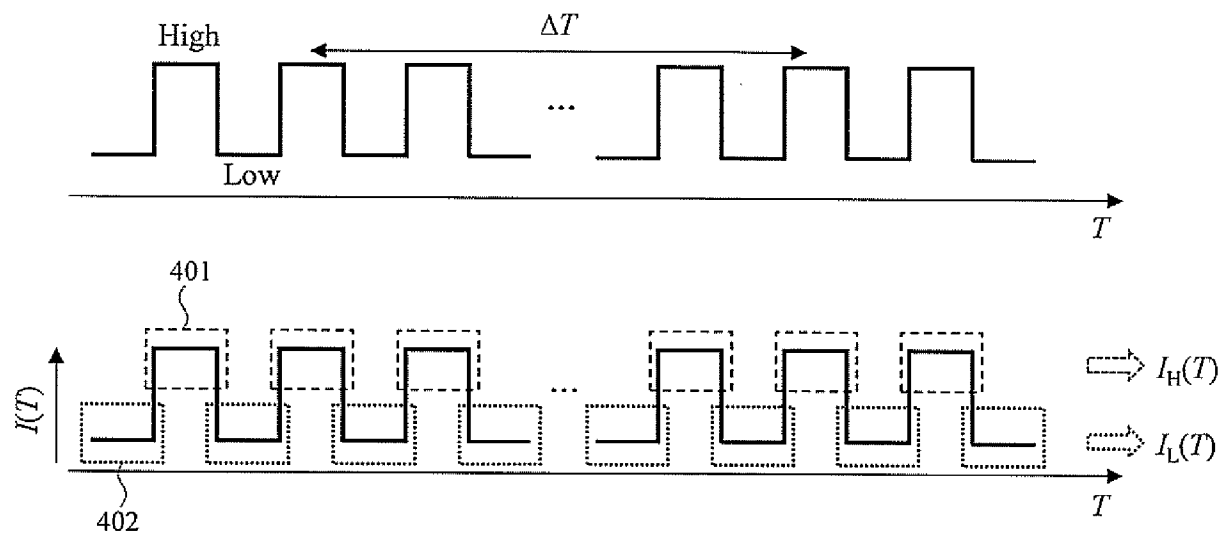
[図3]

図 3



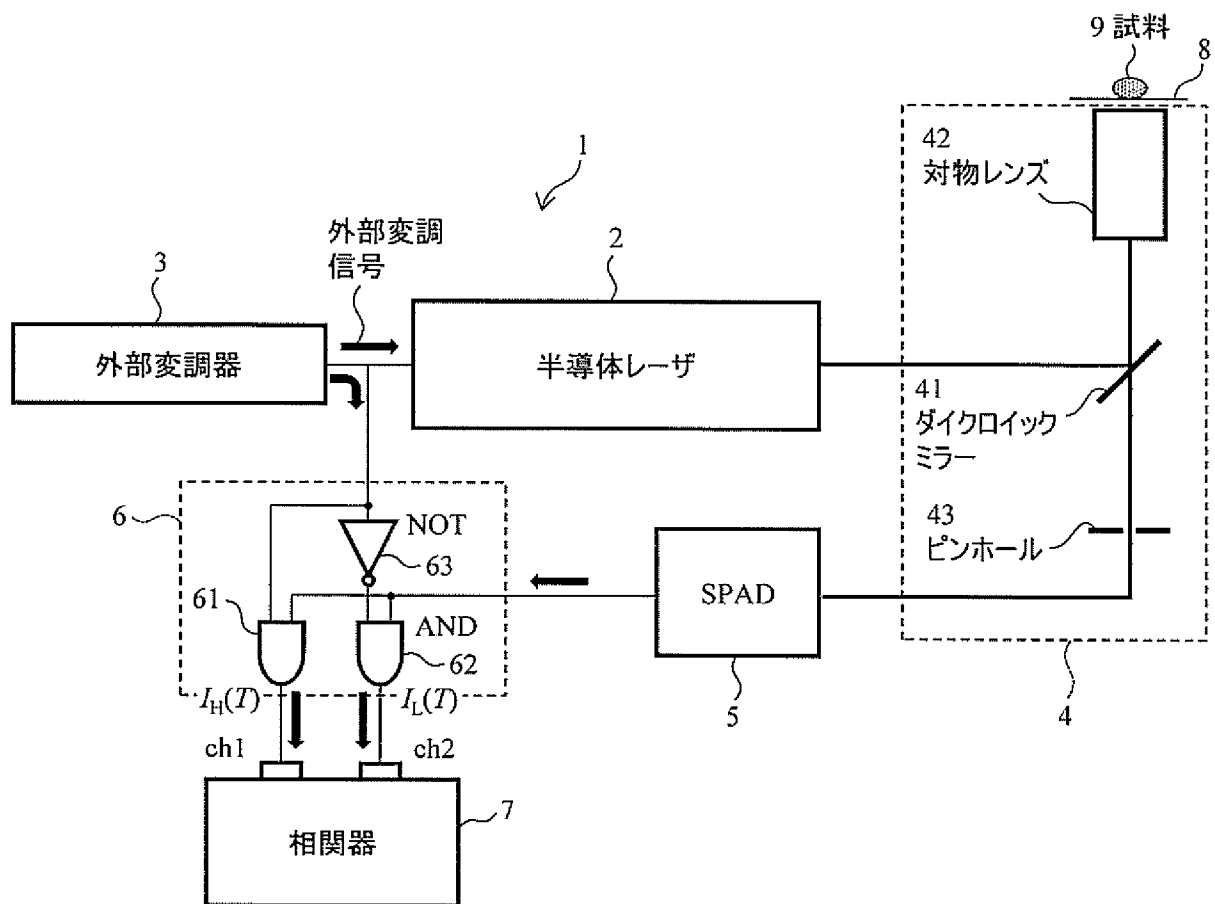
[図4]

図 4



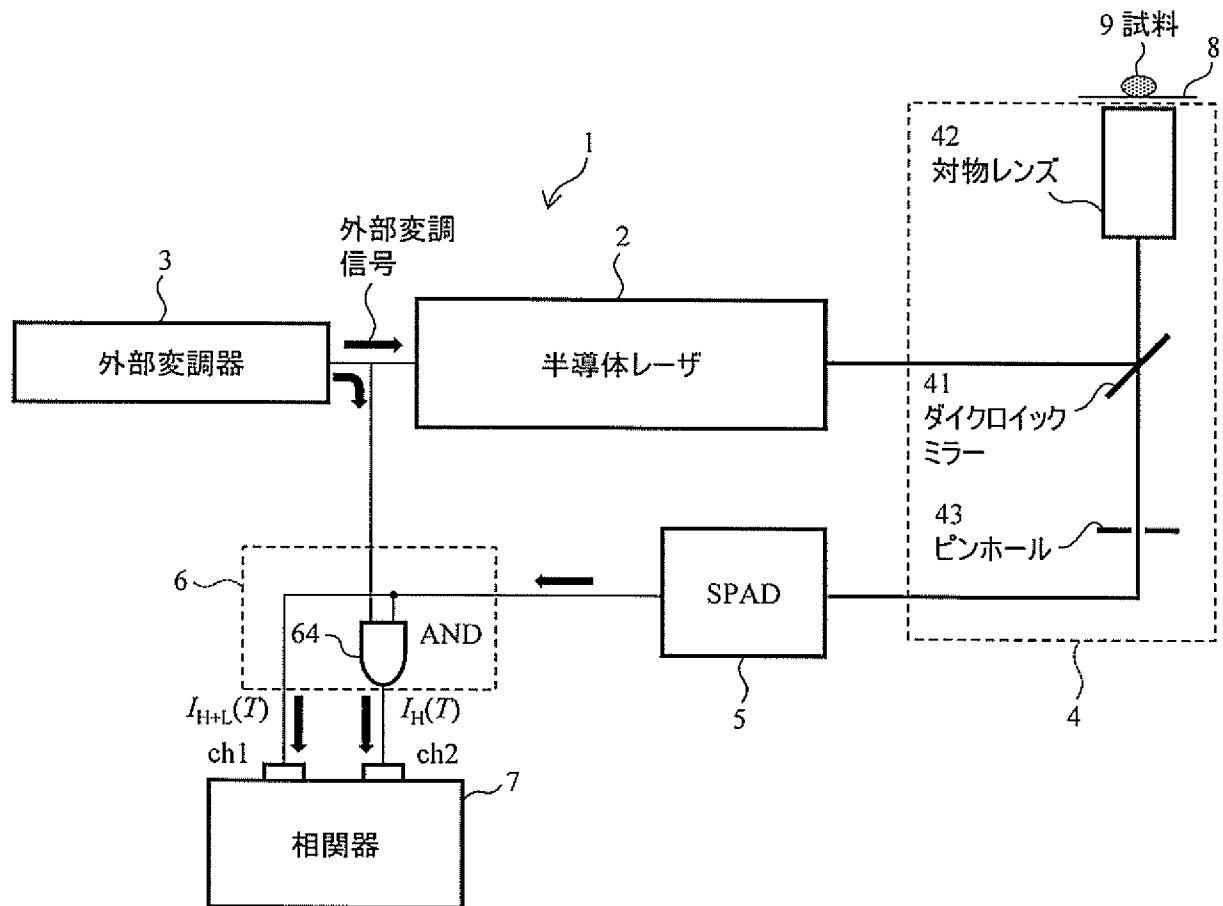
[図5]

図 5



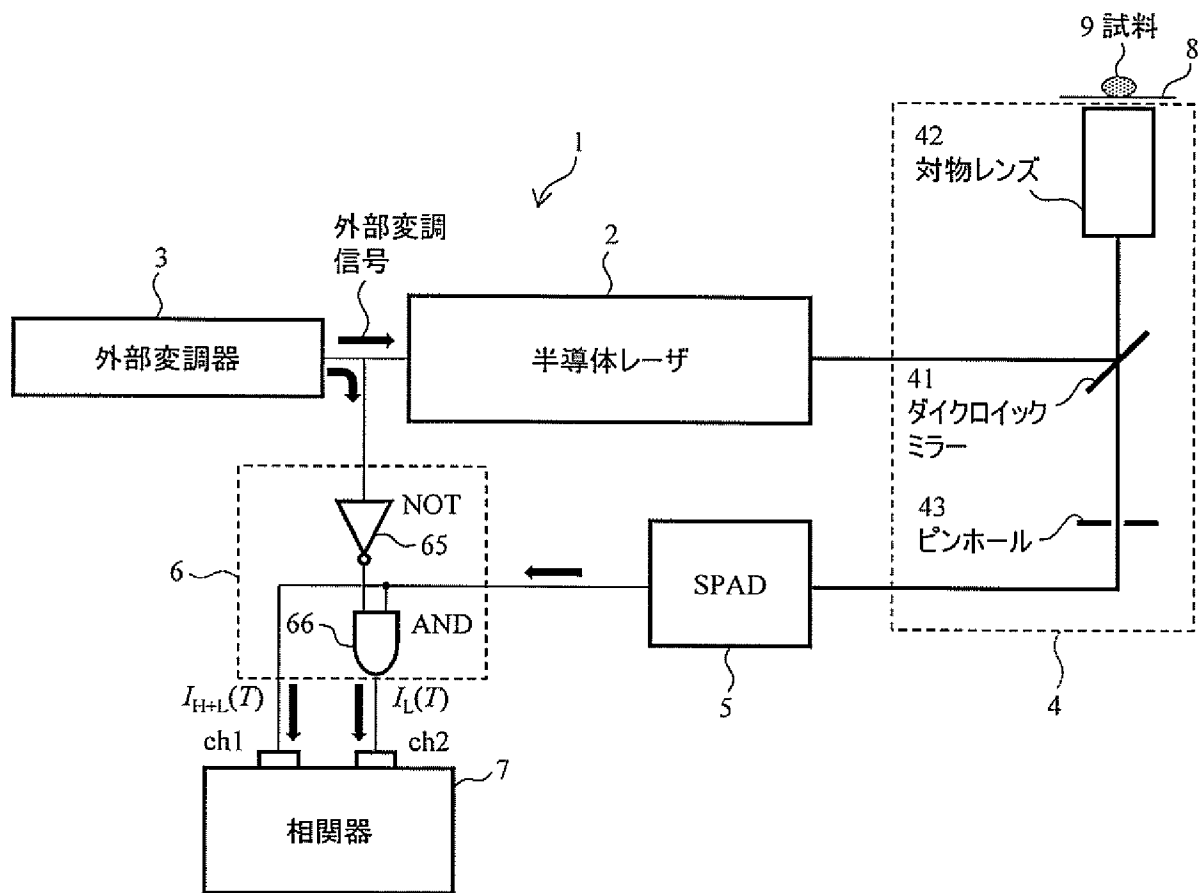
[図6]

図 6



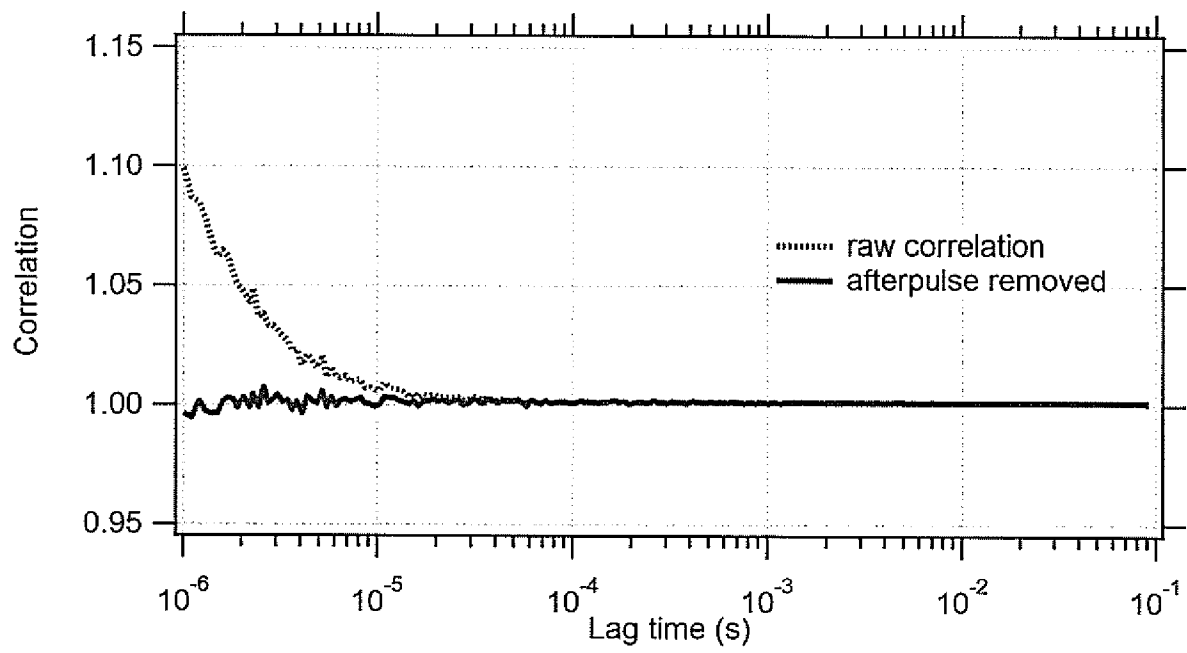
[図7]

図 7



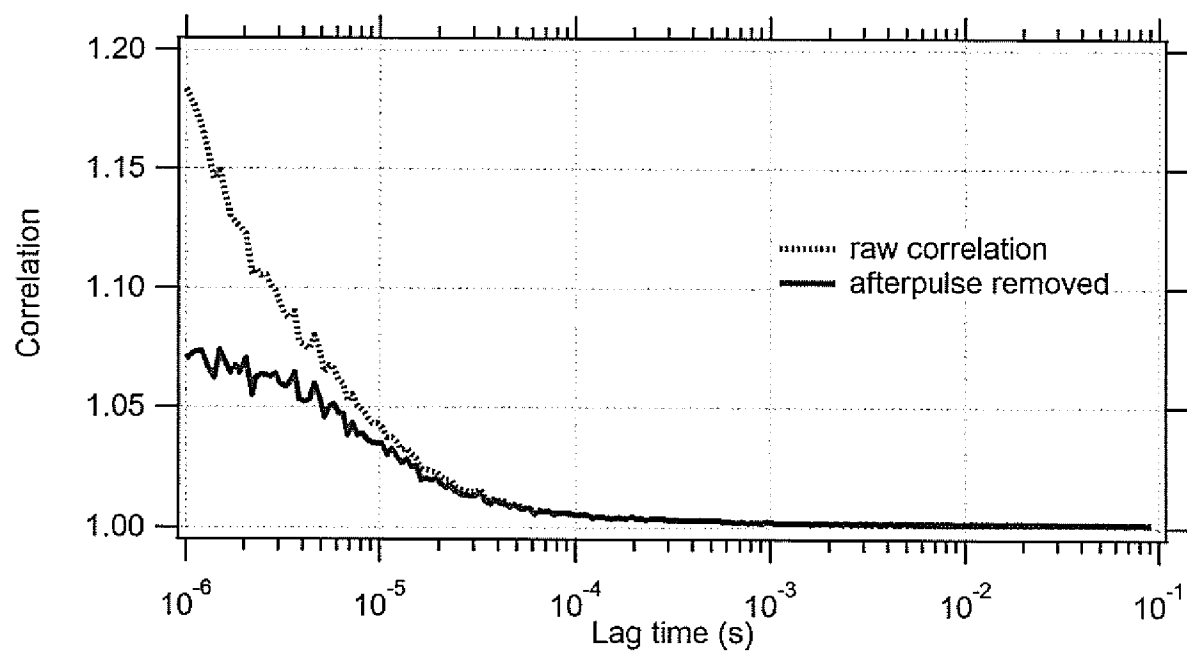
[図8]

図 8



[図9]

図 9



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/083010

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01J1/42(2006.01)i, G01N21/27(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01J1/42, G01N21/27, G01N21/64

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII), Scopus

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2007-530916 A (ISIS Innovation Ltd.), 01 November 2007 (01.11.2007), entire text & US 2007/0057198 A1 entire text & WO 2005/010507 A2	1-8
A	JP 2015-87171 A (Hamamatsu Photonics Kabushiki Kaisha), 07 May 2015 (07.05.2015), entire text (Family: none)	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
11 January 2017 (11.01.17)

Date of mailing of the international search report
24 January 2017 (24.01.17)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/083010

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2013-520646 A (Lightship Medical Ltd.), 06 June 2013 (06.06.2013), entire text & US 2013/0084649 A1 entire text & WO 2011/101627 A2	1-8
A	WO 2012/111093 A1 (YSystems Ltd.), 23 August 2012 (23.08.2012), entire text & US 2013/0140431 A1 entire text & EP 2677302 A1 & CA 2805718 A1 & CN 103080730 A & TW 201250230 A1 & KR 10-2013-0054355 A	1-8
A	BOIKO, D. L. et al., On the application of a monolithic array for detecting intensity- correlated photons emitted by different source types, OPTICS EXPRESS, 2009.08.17, Vol. 17, No. 17, pp. 15087-18103	1-8
A	ZHAO, M. et al., Afterpulsing and its correction in fluorescence correlation spectroscopy experiments, APPLIED OPTICS, 2003.07.01, Vol. 42, No. 19, pp. 4031-4036	1-8

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. G01J1/42(2006.01)i, G01N21/27(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int.Cl. G01J1/42, G01N21/27, G01N21/64

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), Scopus

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2007-530916 A (アイシス イノベーション リミテッド) 2007.11.01, 全文 & US 2007/0057198 A1, 全文 & WO 2005/010507 A2	1-8
A	JP 2015-87171 A (浜松ホトニクス株式会社) 2015.05.07, 全文 (ファミリーなし)	1-8
A	JP 2013-520646 A (ライトシップ メディカル リミテッド) 2013.06.06, 全文 & US 2013/0084649 A1, 全文 & WO 2011/101627 A2	1-8

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11.01.2017

国際調査報告の発送日

24.01.2017

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

塚本 丈二

2W

3304

電話番号 03-3581-1101 内線 3258

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 2012/111093 A1 (有限会社ワイ・システムズ) 2012.08.23, 全文 & US 2013/0140431 A1, 全文 & EP 2677302 A1 & CA 2805718 A1 & CN 103080730 A & TW 201250230 A1 & KR 10-2013-0054355 A	1-8
A	BOIKO, D. L. et al., On the application of a monolithic array for detecting intensity-correlated photons emitted by different source types, OPTICS EXPRESS, 2009.08.17, Vol. 17, No. 17, pp. 15087-18103	1-8
A	ZHAO, M. et al., Afterpulsing and its correction in fluorescence correlation spectroscopy experiments, APPLIED OPTICS, 2003.07.01, Vol. 42, No. 19, pp. 4031-4036	1-8