

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B1)

(11) 特許番号  
特許第6931730号  
(P6931730)

(45) 発行日 令和3年9月8日(2021.9.8)

(24) 登録日 令和3年8月18日(2021.8.18)

(51) Int.Cl.  
GO 1 N 21/64 (2006.01)

F I  
GO 1 N 21/64 Z

請求項の数 9 (全 36 頁)

(21) 出願番号 (22) 出願日 審査請求日  早期審査対象出願	特願2020-66069 (P2020-66069) 令和2年4月1日(2020.4.1) 令和3年6月8日(2021.6.8)	(73) 特許権者 000236436 浜松ホトニクス株式会社 静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 (74) 代理人 100088155 弁理士 長谷川 芳樹 (74) 代理人 100113435 弁理士 黒木 義樹 (74) 代理人 100140442 弁理士 柴山 健一 (74) 代理人 100183438 弁理士 内藤 泰史 (72) 発明者 近藤 房宣 静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内
最終頁に続く		

(54) 【発明の名称】 光学測定装置及び光学測定方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

測定対象物の光学特性を測定する光学測定装置であって、  
照射対象に照射光を照射する照射光学系と、  
前記照射光に起因する検出光を検出する光検出部と、  
前記検出光に応じた検出信号を処理する信号処理部と、を備え、  
第 1 処理では、

前記照射光学系が、前記測定対象物とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材を前記照射対象として、前記リファレンス部材に前記照射光を照射し、

前記光検出部が、前記照射光が照射された前記リファレンス部材からの前記照射光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光を前記検出光として検出し、

前記信号処理部が、前記キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を前記検出信号として、該キャリブレーション信号に基づき、第 2 処理における前記検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施し、  
第 2 処理では、

前記照射光学系が、前記測定対象物を前記照射対象として、前記測定対象物に前記照射光を照射し、

前記光検出部が、前記照射光が照射された前記測定対象物から生じる蛍光、及び、前記照射光が照射された前記測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を前記検出光として検出し、

10

20

前記信号処理部が、前記測定対象光に応じた測定信号を前記検出信号として、前記測定信号から、前記第 1 処理における前記キャリブレーション処理における前記散乱光に応じた信号成分を除去する、光学測定装置。

【請求項 2】

前記リファレンス部材は、前記照射光を反射する反射部材を含む、請求項 1 記載の光学測定装置。

【請求項 3】

前記反射部材は、前記照射光の照射により蛍光を発生しない、請求項 2 記載の光学測定装置。

【請求項 4】

前記反射部材は、前記照射光を拡散する反射拡散体を含んでいる、請求項 2 又は 3 記載の光学測定装置。

【請求項 5】

前記反射部材は、  
前記照射光を反射する反射基材と、  
前記反射基材に支持され、前記照射光を拡散する拡散体と、を含んでいる、請求項 2 又は 3 記載の光学測定装置。

【請求項 6】

前記反射部材は、ミラーを含んでいる、請求項 2 又は 3 記載の光学測定装置。

【請求項 7】

測定対象物の光学特性を測定する光学測定装置であって、  
照射光を照射する照射光学系と、  
前記照射光に起因する検出光を検出する第 1 の検出光学系及び第 2 の検出光学系を有する光検出部と、  
前記検出光に応じた検出信号を処理する信号処理部と、を備え、  
第 1 処理では、

前記照射光学系が、前記第 1 の検出光学系に前記照射光を照射し、

前記光検出部の前記第 1 の検出光学系が、前記照射光であるキャリブレーション処理用光を前記検出光として検出し、

前記信号処理部が、前記キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を前記検出信号として、該キャリブレーション信号に基づき、第 2 処理における前記検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施し、  
第 2 処理では、

前記照射光学系が、前記測定対象物に前記照射光を照射し、

前記光検出部の前記第 2 の検出光学系が、前記照射光が照射された前記測定対象物から生じる蛍光、及び、前記照射光が照射された前記測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を前記検出光として検出し、

前記信号処理部が、前記測定対象光に応じた測定信号を前記検出信号として、前記測定信号から、前記第 1 処理における前記キャリブレーション処理における前記散乱光に応じた信号成分を除去する、光学測定装置。

【請求項 8】

測定対象物の光学特性を測定する光学測定方法であって、

前記測定対象物とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材に照射光を照射することと、

前記照射光が照射された前記リファレンス部材からの前記照射光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光を検出することと、

前記キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施することと、

を含む第 1 処理と、

10

20

30

40

50

前記測定対象物に前記照射光を照射することと、  
前記照射光が照射された前記測定対象物から生じる蛍光、及び、前記照射光が照射された前記測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出することと、  
前記測定対象光に応じた前記測定信号から、前記第 1 処理における前記キャリブレーション処理における前記散乱光に応じた信号成分を除去することと、  
を含む第 2 処理と、を実行する光学測定方法。

【請求項 9】

測定対象物の光学特性を測定する光学測定方法であって、  
照射光を照射することと、  
前記照射光であるキャリブレーション処理用光を検出することと、  
前記キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施することと

10

、  
を含む第 1 処理と、  
前記測定対象物に前記照射光を照射することと、  
前記照射光が照射された前記測定対象物から生じる蛍光、及び、前記照射光が照射された前記測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出することと、  
前記測定対象光に応じた前記測定信号から、前記第 1 処理における前記キャリブレーション処理における前記散乱光に応じた信号成分を除去することと、  
を含む第 2 処理と、を実行する光学測定方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明の一態様は、試料の光学特性を測定するための光学測定装置及び光学測定方法に関する。

【背景技術】

【0002】

特許文献 1 には、基板上に置かれた蛍光サンプルに対して励起光を照射し、蛍光を測定した際に含まれる蛍光ノイズ成分（基板からの蛍光成分）を除去すべく、減衰信号を生成して差し引く技術が開示されている。具体的には、特許文献 1 では、基板の蛍光と等しい位相の減衰信号を生成し、測定した蛍光信号から該減衰信号を差し引くことにより、蛍光ノイズ成分を除去している。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】特表 2010-518394 号公報

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

上述したように、特許文献 1 では、励起光を試料に照射することにより生じる蛍光から、試料の測定対象部以外から生じる蛍光ノイズ成分が除去されている。ここで、試料に光を照射し、試料からの光を検出した際に含まれるノイズ成分には、試料（照射されたもの）から生じる光（例えば蛍光）に起因するものだけでなく、照射光（例えば励起光）自体（例えば散乱光）がノイズ成分となることも考えられる。特許文献 1 の技術では、照射光自体がノイズ成分となった場合を考慮しておらず、当該ノイズ成分を除去することができない。

40

【0005】

一方、本発明者らは、検出光に含まれる蛍光及び散乱光（照射光自体に起因する光）の位相の違いに着目し、検出光から、照射光と等しい位相を持つ信号成分である散乱光の信号成分を除去することにより、照射光自体に起因するノイズ成分を除去する光学測定装置

50

を見出した。このような光学測定装置においては、例えば、事前にキャリブレーション処理が実施される。キャリブレーション処理では、試料における蛍光を生じにくい部分に照射光を照射することによりキャリブレーション処理用光（理想的には散乱光のみを含む光）を検出し、該キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、検出信号から、概ね散乱光成分に応じた信号成分のみを除去することができる。

【0006】

ここで、キャリブレーション処理では、試料（例えば測定が実施しやすいようにチップ化されたもの、以下実サンプル）における、蛍光を生じにくい部分（例えば実サンプルにおいて蛍光物質が少ないと判断される領域）に照射光を照射することにより、概ね散乱光のみを含んだキャリブレーション処理用光を検出することが考えられる。しかしながら、実サンプルに照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する方法においては、光検出器において検出されるキャリブレーション処理用光から蛍光を完全に除くことは困難であり、キャリブレーション信号処理用光には微量の蛍光成分が含まれてしまう。このことにより、散乱光成分に加え及び微量の蛍光成分に基づきキャリブレーション処理が行われることになり、キャリブレーション処理が蛍光成分の影響を受けた結果、その後の蛍光測定を高精度に行うことができないおそれがあることが分かった。

【0007】

本発明の一態様は上記実情に鑑みてなされたものであり、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことが可能な光学測定装置及び光学測定方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の一態様に係る光学測定装置は、測定対象物の光学特性を測定する光学測定装置であって、照射対象に照射光を照射する照射光学系と、照射光に起因する検出光を検出する光検出部と、検出光に応じた検出信号を処理する信号処理部と、を備え、第1処理では、照射光学系が、測定対象物とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材を照射対象として、リファレンス部材に照射光を照射し、光検出部が、照射光が照射されたリファレンス部材からの照射光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光を検出光として検出し、信号処理部が、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を検出信号として、該キャリブレーション信号に基づき、第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施し、第2処理では、照射光学系が、測定対象物を照射対象として、測定対象物に照射光を照射し、光検出部が、照射光が照射された測定対象物から生じる蛍光、及び、照射光が照射された測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し、信号処理部が、測定対象光に応じた測定信号を検出信号として、測定信号から、第1処理におけるキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去する。

【0009】

本発明の一態様に係る光学測定装置では、キャリブレーション処理に係る第1処理において、測定対象物とは異なるリファレンス部材に照射光が照射されて散乱光を含むキャリブレーション処理用光が検出されている。そして、第2処理において、キャリブレーション処理の実施結果に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。また、測定対象物とは異なる、キャリブレーション処理用のリファレンス部材が用いられることにより、例えば測定対象物に照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する場合に問題となる、測定対象物の特性に応じたキャリブレーション処理の結果のばらつきが生じない。そのため、蛍光測定をより高精度に行うことができる。このように、本発明の一態様に係る光学測定装置によれば、キャリブレーション処理をより適切に行うことができ、照射光自体に起因するノイズ成分をより適切に除去し、蛍光測定をより高精度に行うことができる。

【0010】

リファレンス部材は、照射光を反射する反射部材を含んでいてもよい。このような構成によれば、検出光の光量を容易に大きくすることができる。

【0011】

反射部材は、照射光の照射により蛍光を発生しないことが好ましい。このような構成によれば、照射光の照射によっても、反射部材に起因する蛍光が発生しない（或いは、無視できる程度にしか蛍光を発生しない）ため、第2処理において、測定信号から散乱光成分に応じた信号成分のみを確実に除去することができる。

【0012】

反射部材は、照射光を拡散する反射拡散体を含んでいてもよい。このような構成によれば、反射拡散体によって様々な角度の散乱光を容易に生じさせることができ、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。

10

【0013】

反射部材は、照射光を反射する反射基材と、反射基材に支持され、照射光を拡散する拡散体と、を含んでいてもよい。このような構成によれば、反射基材と拡散体との協働によって、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。

【0014】

反射部材は、ミラーを含んでいてもよい。このような構成によれば、光検出部に対するミラーの反射角度を調整することにより、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。

【0015】

20

本発明の一態様に係る光学測定装置は、測定対象物の光学特性を測定する光学測定装置であって、照射光を照射する照射光学系と、照射光に起因する検出光を検出する第1の検出光学系及び第2の検出光学系を有する光検出部と、検出光に応じた検出信号を処理する信号処理部と、を備え、第1処理では、照射光学系が、第1の検出光学系に照射光を照射し、光検出部の第1の検出光学系が、照射光であるキャリブレーション処理用光を検出光として検出し、信号処理部が、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を検出信号として、該キャリブレーション信号に基づき、第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施し、第2処理では、照射光学系が、測定対象物に照射光を照射し、光検出部の第2の検出光学系が、照射光が照射された測定対象物から生じる蛍光、及び、照射光が照射された測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し、信号処理部が、測定対象光に応じた測定信号を検出信号として、測定信号から、第1処理におけるキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去する。

30

【0016】

本発明の一態様に係る光学測定装置では、キャリブレーション処理に係る第1処理において、第1の検出光学系に対して直接照射光が照射されて、該照射光であるキャリブレーション処理用光が検出されている。照射光は、散乱光と同じ位相を持つ光である。このため、第1の検出光学系が照射光をキャリブレーション処理用光として検出することによって、蛍光を含まず且つ散乱光と同じ位相の光をキャリブレーション処理用光として適切に検出することが可能になる。このことで、第2処理において、キャリブレーション処理の実施結果に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。また、測定対象物に照射光を照射せずにキャリブレーション処理用光が検出されるため、例えば測定対象物に照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する場合に問題となる、測定対象物の特性に応じたキャリブレーション処理の結果のばらつきが生じない。そのため、蛍光測定をより高精度に行うことができる。このように、本発明の一態様に係る光学測定装置によれば、キャリブレーション処理をより適切に行うことができ、照射光自体に起因するノイズ成分をより適切に除去し、蛍光測定をより高精度に行うことができる。

40

【0017】

本発明の一態様に係る光学測定装置は、測定対象物の光学特性を測定する光学測定装置

50

であって、変調信号に応じた照射光を照射する照射光学系と、照射光に起因する検出光を検出する光検出部と、信号処理部と、を備え、第1処理では、信号処理部が、照射光学系から照射された照射光の散乱光が検出光として光検出部に検出されるまでに相当する遅延に応じて変調信号の位相を変化させたキャリアブレーション信号を生成し、該キャリアブレーション信号に基づき、第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリアブレーション処理を実施し、第2処理では、照射光学系が、測定対象物に照射光を照射し、光検出部が、照射光が照射された測定対象物から生じる蛍光、及び、照射光が照射された測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し、信号処理部が、測定対象光に応じた測定信号を検出信号として、測定信号から、第1処理におけるキャリアブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去する。

10

**【0018】**

本発明の一態様に係る光学測定装置では、キャリアブレーション処理に係る第1処理において、照射光学系に入力される変調信号の位相を照射光学系の遅延に応じて変化させたキャリアブレーション信号が生成される。このように、照射光に係る変調信号について照射光学系の遅延に応じてキャリアブレーション信号が生成されることにより、キャリアブレーション処理用光を検出することなく、実際に散乱光をキャリアブレーション処理用光として検出した場合と同様のキャリアブレーション信号（散乱光と同様の位相を持つキャリアブレーション信号）を得ることができる。すなわち、このような構成によれば、蛍光の信号成分を含まない散乱光の信号成分のみのキャリアブレーション信号を得ることができる。このことで、第2処理において、キャリアブレーション処理の実施結果に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。また、測定対象物に照射光を照射せずにキャリアブレーション処理用光が検出されるため、例えば測定対象物に照射光を照射してキャリアブレーション処理用光を検出する場合に問題となる、測定対象物の特性に応じたキャリアブレーション処理の結果のばらつきが生じない。そのため、蛍光測定をより高精度に行うことができる。このように、本発明の一態様に係る光学測定装置によれば、キャリアブレーション処理をより適切に行うことができ、照射光自体に起因するノイズ成分をより適切に除去し、蛍光測定をより高精度に行うことができる。

20

**【0019】**

第1処理では、信号処理部が、照射光学系から照射された照射光の散乱光が検出光として光検出部に検出される場合の振幅に応じてキャリアブレーション信号の振幅を設定してもよい。これにより、散乱光をキャリアブレーション処理用光として実際に検出する場合とより近似させたキャリアブレーション信号を得ることができる。

30

**【0020】**

本発明の一態様に係る光学測定方法は、測定対象物の光学特性を測定する光学測定方法であって、測定対象物とは異なるキャリアブレーション処理用のリファレンス部材に照射光を照射することと、照射光が照射されたリファレンス部材からの照射光の散乱光を含むキャリアブレーション処理用光を検出することと、キャリアブレーション処理用光に応じたキャリアブレーション信号に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリアブレーション処理を実施することと、を含む第1処理と、測定対象物に照射光を照射することと、照射光が照射された測定対象物から生じる蛍光、及び、照射光が照射された測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出することと、測定対象光に応じた測定信号から、第1処理におけるキャリアブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去することと、を含む第2処理と、を実行する。

40

**【0021】**

本発明の一態様に係る光学測定方法は、測定対象物の光学特性を測定する光学測定方法であって、照射光を照射することと、照射光であるキャリアブレーション処理用光を検出することと、キャリアブレーション処理用光に応じたキャリアブレーション信号に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリアブレーション処理を実施することと、を含む第1処理と、測定対象物に照射光を照射することと、照射光が照射された測

50

定対象物から生じる蛍光、及び、照射光が照射された測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出することと、測定対象光に応じた測定信号から、第１処理におけるキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去することと、を含む第２処理と、を実行する。

【００２２】

本発明の一態様に係る光学測定方法は、測定対象物の光学特性を測定する光学測定方法であって、照射光学系から照射された照射光の散乱光が光検出部に検出されるまでに相当する遅延に応じて照射光学系に入力される変調信号の位相を変化させたキャリブレーション信号を生成し、該キャリブレーション信号に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施すること、を含む第１処理と、測定対象物に照射光を照射することと、照射光が照射された測定対象物から生じる蛍光、及び、照射光が照射された測定対象物からの散乱光を含む測定対象光を検出することと、測定対象光に応じた測定信号から、第１処理におけるキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去することと、を含む第２処理と、を実行する。

10

【発明の効果】

【００２３】

本発明の一態様によれば、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【００２４】

20

【図１】本発明の実施形態に係る光学測定装置の概略構成図である。

【図２】蛍光と散乱光との位相差を説明する図である。

【図３】散乱光のキャンセル手法について説明する図である。

【図４】蛍光測定手法について説明する図である。

【図５】光学測定装置による蛍光測定処理を示すフローチャートである。

【図６】光学測定装置の概略構成図である。

【図７】ノイズ成分の除去について説明する図である。

【図８】試料を模式的に示す図である。

【図９】Ｓ／Ｎの定義について説明する図である。

【図１０】キャリブレーション処理で用いる信号について説明する図である。

30

【図１１】キャリブレーション処理を説明する図である。

【図１２】変調周波数毎の蛍光成分の割合を示す表である。

【図１３】キャリブレーション処理を示すフローチャートである。

【図１４】キャリブレーション処理の効果を説明する図である。

【図１５】蛍光測定手順について説明する図である。

【図１６】蛍光を発生するリファレンス部材を用いた場合のキャリブレーションの効果について説明する図である。

【図１７】蛍光を発生しないリファレンス部材を用いた場合のキャリブレーションの効果について説明する図である。

40

【図１８】第１の態様における蛍光測定の概要を説明する図である。

【図１９】リファレンス部材としてミラーを用いる場合の散乱光取得について説明する図である。

【図２０】リファレンス部材として反射拡散体を用いる場合の散乱光取得について説明する図である。

【図２１】リファレンス部材としてすりガラスを用いる場合の散乱光取得について説明する図である。

【図２２】第１の態様の蛍光測定処理を示すフローチャートである。

【図２３】第２の態様の光学測定装置の概略構成図である。

【図２４】第２の態様における蛍光測定の概要を説明する図である。

【図２５】第２の態様の照射光取得について説明する図である。

50

【図 2 6】第 2 の態様の蛍光測定処理を示すフローチャートである。

【図 2 7】第 3 の態様の光学測定装置の概略構成図である。

【図 2 8】第 3 の態様における蛍光測定の概要を説明する図である。

【図 2 9】第 3 の態様の蛍光測定処理を示すフローチャートである。

【発明を実施するための形態】

【0025】

以下、本発明の実施形態について、図面を参照して詳細に説明する。なお、各図においては同一又は相当部分には同一符号を付し、重複する説明を省略する。

【0026】

図 1 は、本実施形態に係る光学測定装置 1 の概略構成図である。光学測定装置 1 は、試料に照射された光に応じて試料から生じる光を検出する装置である。本実施形態では、光学測定装置 1 は、試料に照射された励起光（照射光）に応じて試料から生じる蛍光を検出する蛍光測定装置であるとして説明する。励起光とは試料を励起する光であり、蛍光とは励起光に応じて試料が放出する光であり、励起光と波長が異なる光である。また、本実施形態では、光学測定装置 1 は、イムノクロマト法を用いた測定に係る蛍光を検出する装置であるとして説明する。イムノクロマト法とは、抗原抗体反応を利用した免疫測定法であり、例えば、インフルエンザウイルスの検出等に用いられる。

【0027】

図 1 に示されるように、イムノクロマト法を用いた測定では、試料として免疫クロマト試験片 100 が用意される。免疫クロマト試験片 100 は、試薬ホルダ 101 内に、測定対象物となるイムノクロマトメンブレンを収容している。免疫クロマト試験片 100 のイムノクロマトメンブレンの特定の位置（測定対象部）には、所定の抗原に対する捕捉抗体（例えばインフルエンザウイルス抗原に対する抗体）が固定されている。試薬ホルダ 101 には、イムノクロマトメンブレンに検体を滴下するための開口部である検体点着ウィンドウ、及び捕捉抗体が固定された測定対象部を測定するための開口部である測定ウィンドウが設けられている。試薬ホルダ 101 の検体点着ウィンドウに検体が滴下されると、検体中の抗原が、まず蛍光試薬で標識された検出抗体と結合し、次いで捕捉抗体との間で抗原抗体反応を起こしてトラップされる。光学測定装置 1 は、免疫クロマト試験片 100 の測定ウィンドウから露出したイムノクロマトメンブレンに対して励起光を照射し、測定対象部における抗原抗体複合物（詳細には、抗体の蛍光試薬）から蛍光を検出することにより、蛍光強度を測定する。なお、蛍光試薬としては、例えばユウロピウム、Q-dot（登録商標）、有機色素等を用いることができる。

【0028】

ここで、光学測定装置 1 において後述する検出光学系 20 に入射し、検出される検出光には、蛍光だけでなく、励起光自体に起因する光が含まれることが考えられる。このような光は、例えば、励起光の散乱光が挙げられる。このような散乱光は、例えば、励起光が免疫クロマト試験片 100 に照射され、散乱することで発生する励起光の一部であり、励起光と等しい位相を持つ（位相差のない）光である。免疫クロマト試験片 100 のイムノクロマトメンブレンや試薬ホルダ 101 は一般的に白色であるため、上述した散乱光が生じやすくなっている。また、測定する試料や検出光学系の配置によっては、励起光そのものが検出される場合もある。以下では、光学測定装置 1 において検出される検出光には、蛍光及び散乱光が含まれるとして説明する。

【0029】

図 1 に示されるように、光学測定装置 1 は、照射光学系 10 と、検出光学系 20（光検出部）と、光源駆動回路 30 と、I/V 変換アンプ 40 と、波形生成回路 50 と、キャンセル回路 60（信号処理部）と、タイミング生成器 70 と、A/D 変換器 80 と、CPU 90 と、を備える。

【0030】

照射光学系 10 は、測定対象物である免疫クロマト試験片 100（試料）に向けて励起光（照射光）を照射する。照射光学系 10 は、光源 11 と、アパーチャー 12 と、励起光

10

20

30

40

50



フィルタ１３と、コリメートレンズ１４と、を有している。光源１１は、免疫クロマト試験片１００（試料）に励起光を照射する。光源１１は、例えば半導体発光素子である。本実施形態では、光源１１は発光ダイオード（ＬＥＤ）であるとして説明するがこれに限定されず、例えば光量を確保すべくＬＤが用いられてもよい。アパーチャー１２は、光源１１から出射された光を、所望の光束断面を有する光に整形するための光束整形部材である。励起光フィルタ１３は、アパーチャー１２を介して到達した励起光について、励起に必要な波長をフィルタリングする波長選択フィルタである。励起光フィルタ１３は、例えば誘電体多層膜フィルタや色ガラスフィルタ等の光学フィルタであり、より詳細には特定の波長帯（蛍光試薬の励起波長）のみを透過させる誘電体多層膜フィルタからなるバンドパスフィルタである。コリメートレンズ１４は、励起光フィルタ１３によるフィルタリング後の励起光を、免疫クロマト試験片１００（詳細にはイムノクロマトメンブレンの測定対象部）上に結像させるレンズである。

10

#### 【００３１】

検出光学系２０は、励起光に起因する検出光を検出する。具体的には、検出光学系２０は、免疫クロマト試験片１００からの蛍光を検出する。しかしながら、現実的には、検出光学系２０には、免疫クロマト試験片１００からの蛍光（イムノクロマトメンブレンの測定対象部からの蛍光）に加え、上述した励起光自体に起因する散乱光も含んだ光である検出光が入射され、当該検出光を検出することになる。検出光学系２０は、光検出素子２１と、蛍光フィルタ２２と、集光レンズ２３とを有している。検出光は、集光レンズ２３によって集光され、蛍光フィルタ２２を介して光検出素子２１へと入射する。蛍光フィルタ２２は、免疫クロマト試験片１００からの検出光について、蛍光以外の光が光検出素子２１に到達することを抑制するために設けられる波長選択フィルタである。蛍光フィルタ２２は、例えば誘電体多層膜フィルタや色ガラスフィルタ等の光学フィルタであり、より詳細には特定の波長帯のみを透過させる誘電体多層膜フィルタと色ガラスフィルタを組み合わせたバンドパスフィルタである。しかしながら、例えば励起光波長及び蛍光波長が近い場合等においては、蛍光フィルタ２２によって蛍光波長を持つ蛍光を適切に透過させながら励起光波長を持つ散乱光のみを効率よく遮断することは困難である。また、一般的に、効率の良い波長選択フィルタとして汎用される誘電体多層膜フィルタは光の入射角度によって特性が変化してしまう。そのため本実施形態においては、蛍光フィルタ２２を、誘電体多層膜フィルタと色ガラスフィルタとの組み合わせによって構成することで、斜め方向からの散乱光を色ガラスフィルタによって効果的に遮断している。しかしながら、やはり波長選択のみでは十分な効果が得難く、様々な条件を持った散乱光の進入を効率よく防ぐことは困難である。以下では、蛍光フィルタ２２を設けることによって、光検出素子２１に到達する検出光には散乱光が含まれてしまっているとして説明する。

20

30

#### 【００３２】

光検出素子２１は、蛍光フィルタ２２によるフィルタリング後の検出光を検出する光センサである。光検出素子２１は、例えば半導体受光素子である。本実施形態では、光検出素子２１はフォトダイオード（ＰＤ）であるとして説明するがこれに限定されず、後述する光源１１からの励起光の変調周波数に対応して高速応答できるものであれば、アバランシェフォトダイオード（ＡＰＤ）又は光電子増倍管（ＰＭＴ）等であってもよい。光検出素子２１は、詳細には、励起光が照射された免疫クロマト試験片１００（詳細にはイムノクロマトメンブレンの測定対象部における抗原 抗体複合物の蛍光試薬）から生じる蛍光、及び、励起光に起因する光であって励起光と位相差がない上述した散乱光が含まれる検出光を検出する。光検出素子２１は、検出光に応じた検出信号をＩＶ変換アンプ４０に出力する。

40

#### 【００３３】

光源駆動回路３０は、ＬＥＤである光源１１に駆動電流を出力することにより光源１１を駆動させる回路である。光源駆動回路３０は、タイミング生成器７０から、基準となるサイン波状の周波数信号の入力を受ける。光源駆動回路３０は、入力された基準となる周波数信号に基づいて駆動電流の周波数を変調する。すなわち、光源駆動回路３０は、励起

50

光を出力する光源 11 の変調周波数を設定する。これに応じて、光源 11 から出力される励起光の周波数が変調し、光源 11 からの光量（励起光量）がサイン波状に変化する。なお、変調周波数は、用いられる蛍光試薬の蛍光寿命に基づいて決定されてもよい。例えば、蛍光試薬として蛍光寿命が数ミリ秒であるユウロピウムが用いられる場合には変調周波数が 1 kHz 程度とされ、蛍光寿命が数 10 ナノ秒である Q-dot が用いられる場合には変調周波数が 100 MHz 程度とされ、蛍光寿命が数ナノ～数十ナノ秒である有機色素が用いられる場合には変調周波数が 1 GHz 程度とされてもよい。

#### 【0034】

一般的に、蛍光寿命は、蛍光強度がピーク値から  $1/e$ （約 37%）に落ちるまでの時間とされる。この蛍光寿命の定義から逆算すると、例えば蛍光寿命が数ミリ秒であるユウロピウムを用いる場合の最適な変調周波数は 1 kHz、蛍光寿命が数ナノ～数十ナノ秒である有機色素を用いる場合の最適な変調周波数は 100 MHz～1 GHz 程度が好ましいと考えられる。しかし、ユウロピウム試薬を用いて実際に変調周波数に対する蛍光由来の信号出力を測定したところ、蛍光寿命から定まる周波数よりも低周波で変調したほうが、蛍光強度が高くなり、励起光に対する蛍光信号の割合も大きくなることが判明した（図 12 参照）。図 12 に示されるように、蛍光寿命から定まる周波数である 1 kHz よりも低周波側において、蛍光強度が高くなっている。具体的には、蛍光寿命を  $1/e$  ではなく、「蛍光強度のピーク値が 1% に落ちるまでの時間」と定義し、その時間から変調周波数を求めることによって、蛍光強度を高くすることができた。この場合、ユウロピウムであれば蛍光寿命が約 10 ms となり、ここから定まる光源 11 の変調周波数は約 100 Hz と

#### 【0035】

上述したように、光源駆動回路 30 は、光源 11 の変調周波数を、蛍光強度を考慮して決定してもよい。具体的には、光源駆動回路 30 は、光源 11 の変調周波数を、蛍光強度がピーク値から  $1/e$  に落ちるまでの時間である蛍光寿命に対応する値（詳細には、 $1/\text{蛍光寿命}$ ）よりも低くする。光源駆動回路 30 は、光源 11 の変調周波数を、蛍光寿命に対応する値よりも低く、且つ、商用周波数（50 Hz、60 Hz）よりも高く設定し、例えば、100 Hz 付近であって商用周波数の倍波を避けることによりノイズの影響を低減した 110 Hz 程度に設定する。光源駆動回路 30 は、光源 11 の変調周波数を、100 Hz 付近の他の値、例えば 90 Hz、80 Hz、70 Hz、または 130 Hz 等に設定してもよい。

#### 【0036】

IV 変換アンプ 40 は、光検出素子 21 から出力された電流信号（検出信号）を電圧信号に変換する。IV 変換アンプ 40 は、電圧信号に変換した検出信号を波形生成回路 50 に出力する。

#### 【0037】

波形生成回路 50 は、IV 変換アンプ 40 から出力された検出信号に基づいて、検出信号の波形を生成する回路である。波形生成回路 50 は、タイミング生成器 70 から、基準となる周波数信号の入力を受ける。タイミング生成器 70 は、光源駆動回路 30 及び波形生成回路 50 に対して同じタイミングで基準となる周波数信号を入力する。波形生成回路 50 は、生成した波形（検出信号）の情報をキャンセル回路 60 に出力する。

#### 【0038】

キャンセル回路 60 は、波形生成回路 50 によって生成された波形（検出信号）を処理する信号処理部である。キャンセル回路 60 は、蛍光と散乱光における位相の違い（位相差）に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去する。なお、キャンセル回路 60 は、光源駆動回路 30 及び波形生成回路 50 と同じタイミングで、タイミング生成器 70 から基準の周波数信号の入力を受けることにより、励起光（すなわち散乱光）の位相の情報を取得する。これにより、キャンセル回路 60 において、蛍光と散乱光における位相差に基づく、散乱光の信号成分の除去が可能になっている。キャンセル回路 60 の処理の詳細について、図 2～図 4 を参照して説明する。

## 【 0 0 3 9 】

図 2 は、蛍光と散乱光との位相差を説明する概念図である。図 2 に示されるように、光源部 L からサイン波状の励起光が照射された試料 S からのサイン波状の検出光（光検出部 D において検出される検出光）には、サイン波状の散乱光及び蛍光が含まれている。なお、光源部 L からの励起光は、サイン波状に限らず、矩形波等の周期的変調波形でもよく、その場合、検出光（散乱光及び蛍光）も励起光と同様の周期的変調波形を有する。そして、散乱光は励起光と位相差がない光であるのに対して、蛍光は、励起光に応じて試料 S から生じる光であり、散乱光に対して数 10 ミリ秒からナノ秒程度、位相が遅れて検出されることとなる。本発明者らは、このような位相差に着目し、検出光から散乱光のみを除去し蛍光のみを取り出す手法を見出した。なお、図 2 においては、光源部 L の光軸上に試料 S 及び光検出部 D が配置されているため、励起光の光軸と交わる方向に放出された蛍光を検出する図 1 と異なり、励起光の光軸と同軸方向に放出された蛍光を検出している。このような場合、検出光に含まれるのは蛍光及び散乱光に加え、励起光そのものも含まれる可能性もある。また、光検出部 D に入射する、励起光に起因する光の光量も大きくなる可能性が高い。そのため、本手法による蛍光の取出しが有効になる。

10

## 【 0 0 4 0 】

図 3 は、散乱光の除去（キャンセル）手法について説明する図である。図 3 は、検出光のうち散乱光の波形のみを示している。なお、この波形は励起光の波形と等しい。図 3 において横軸は時間、縦軸は振幅を示している。図 3 に示される、散乱光の位相に応じた波形について、例えば 1 周期の  $1/4$  の時間単位で分離（時間領域を分離）し、各時間領域 1 ~ 4 についてそれぞれ積分すると、各時間領域 1 ~ 4 における散乱光の出力を得ることができる。ここで、各時間領域 1 ~ 4 の積分値それぞれに、ある乗数を掛けて全て足し合わせると、出力の合計を 0 とすることができる。すなわち、各時間領域 1 ~ 4 の出力の絶対値は同じであり、時間領域 1 及び 2 の振幅の範囲は正、時間領域 3 及び 4 の振幅の範囲は負であるところ、図 3 に示されるように、時間領域 1 について乗数「 $-1$ 」が掛けられて増幅されると時間領域 1 の出力は「正 $\times$ 負」で負の値となり、時間領域 2 について乗数「 $+1$ 」が掛けられて増幅されると時間領域 2 の出力は「正 $\times$ 正」で正の値となり、時間領域 3 について乗数「 $+1$ 」が掛けられて増幅されると時間領域 3 の出力は「負 $\times$ 正」で負の値となり、時間領域 4 について乗数「 $-1$ 」が掛けられて増幅されると時間領域 4 の出力は「負 $\times$ 負」で正の値となる。このため、所定の乗数が掛けて増幅された各時間領域 1 ~ 4 の積分値を全て足し合わされると、各値が相殺されて、出力の合計が 0 となる。このように、散乱光に応じた信号成分については、散乱光の位相に応じた所定の時間単位で分離し、分離した各成分をそれぞれ増幅し、増幅した各成分を合成することによって、除去する（出力を 0 とする）ことができる。

20

30

## 【 0 0 4 1 】

図 4 は、蛍光測定手法について説明する図である。図 4 は、検出信号に含まれる散乱光及び蛍光の波形を示している。図 4 において横軸は時間、縦軸は振幅を示している。上述したように、散乱光に応じた信号成分については、散乱光の位相に応じた所定の時間単位で分離し、分離した各成分をそれぞれ増幅し、増幅した各成分を合成することによって、除去する（出力を 0 とする）ことができた。ここで、図 4 に示されるように、蛍光については散乱光に対して位相差を有しているため、散乱光の位相に応じた所定の時間単位で分離すると、各時間領域 1 ~ 4 の積分値が同じ値とならないため、散乱光と同様の乗数を掛けてそれぞれ増幅し足し合わされた値は 0 ではない値が出力される。このように、散乱光及び蛍光について、同じ時間領域に分離して増幅し合成することによって、散乱光の信号成分を除去しながら蛍光の出力強度を検波出力することができる。

40

## 【 0 0 4 2 】

このように、キャンセル回路 60 は、検出信号について、散乱光の位相に応じた所定の時間単位で分離し、分離した検出信号の各成分をそれぞれ増幅し、増幅した各成分を合成することにより、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去し、蛍光の信号成分を得ることができる。キャンセル回路 60 は、散乱光に応じた信号成分を除去した信号（すなわ

50

ち蛍光の信号成分のみとなった信号)である蛍光信号をA/D変換器80に出力する。なお、所定の時間単位として1周期の1/4の時間を例示したがこれに限定されず、合成後において散乱光に応じた信号成分を除去可能な時間単位であればどのような時間単位であってもよい。また、増幅における乗数として「+1」及び「-1」を例示したがこれに限定されず、合成後において散乱光に応じた信号成分を除去可能な乗数であればどのような乗数であってもよい。

#### 【0043】

A/D変換器80は、キャンセル回路60から出力された蛍光信号について、A/D変換を行いデジタル値に変換し、CPU90に出力する。CPU90は、A/D変換器80から出力されたデジタル信号(蛍光信号)について、所定の制御・信号処理を行う。CPU90は、信号処理結果を例えばシリアル通信で外部のコンピュータに転送してもよい。また、CPU90は、タイミング生成器70から出力される信号、すなわち光学測定装置1における各種動作タイミングを決定する信号を生成してタイミング生成器70に出力してもよい。なお、CPU90に替えてFPGAが用いられてもよい。以上の処理によって、光学測定装置1は、検出光から散乱光の影響を除去し、蛍光試薬の蛍光に関する信号のみを得ることができる。

#### 【0044】

次に、光学測定装置1が行う蛍光測定処理(光学測定方法)について、図5を参照して説明する。

#### 【0045】

図5は、光学測定装置1による蛍光測定処理を示すフローチャートである。図5に示されるように、蛍光測定処理では、最初に、照射光学系10(光源部)の光源11が、免疫クロマト試験片100(試料)に向けて励起光を照射する(ステップS1)。免疫クロマト試験片100(詳細には、イムノクロマトメンブレンの測定対象部における抗原-抗体複合物)に対して励起光が照射されることにより、抗原-抗体複合物の蛍光試薬から蛍光が放出される。一方、励起光が免疫クロマト試験片100で散乱され、散乱光が生じる。

#### 【0046】

つづいて、検出光学系20(光検出部)の光検出素子21が、上述した蛍光及び散乱光を含む検出光を検出する(ステップS2)。光検出素子21は、検出光をI/V変換アンプ40に出力する。そして、I/V変換アンプ40において光検出素子21から出力された電流信号(検出信号)が電圧信号に変換され、波形生成回路50において検出信号の波形が生成された後に、キャンセル回路60(信号処理部)が、蛍光と散乱光における位相差に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去する(ステップS3)。具体的には、キャンセル回路60は、検出信号について、散乱光の位相に応じた所定の時間単位で分離し、分離した検出信号の各成分をそれぞれ増幅し、増幅した各成分を合成することにより、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去し、蛍光の信号成分を得る。その後、A/D変換器80において蛍光信号がデジタル値に変換され、CPU90において所定の制御・信号処理が行われることにより、蛍光に関する信号を得ることができる。

#### 【0047】

なお、光学測定装置1では、キャンセル回路60において検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するとして説明したが、これに限定されない。すなわち、図6に示される光学測定装置1Aのように、キャンセル回路60を設けずに、A/D変換器80におけるA/D変換後に、CPU90A(信号処理部)において検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去する処理を行ってもよい。この場合には、キャンセル回路60を設ける必要がないため、装置の小型化に寄与することができる。

#### 【0048】

次に、上述した実施形態において説明した特定の信号成分(ノイズ)の除去に関して、図7~図16を参照してより具体的に説明する。

#### 【0049】

図7は、ノイズ成分の除去について説明する図である。図7(a)は励起光に起因する

10

20

30

40

50

散乱光に応じた信号成分（ノイズ）の除去を行わなかった場合の検出光の強度、図7（b）は励起光に起因する散乱光に応じた信号成分（ノイズ）の除去を行った場合の検出光の強度を示している。図7（a）及び図7（b）において縦軸は検出光の強度を示しており、横軸は試料500の測定領域である測定部501における位置を示すチャンネルである。1チャンネルは例えば0.02mmである。図7（c）は、図7（a）及び図7（b）のチャンネルの位置に対応する試料500の領域を示す図である。図7（c）に示した試料500を拡大した模式図が図8である。図8に示されるように、試料500は、検体が滴下される滴下部502と、蛍光試薬で標識された検出抗体を保持する保持部503と、捕捉抗体を測定対象部504に固定した測定部501とが上流から下流に向けて配置されている。蛍光試薬は、例えばDTBTA-Eu<sup>3+</sup>である。測定部501は、例えば白色のイムノクロマトメンブレンの一部であるため、励起光を散乱し易い。

10

#### 【0050】

このような試料500に対して、滴下部502に検体を滴下すると、検体は毛細管現象により下流側へ移動する。検体中に被検出物質がある場合、保持部503の検出抗体と被検出物質とが反応して複合体を形成し、この複合体が測定部501を下流側に移動していく。そして、複合体が測定部501上の測定対象部504に達したときに、複合体が測定対象部504の捕捉抗体に捕捉され、被検出物質、検出抗体、及び捕捉抗体の3つによる複合体が形成される。この状態で測定領域である測定部501に対して集光位置（チャンネル）を変化させながら励起光が照射されることにより、図7（a）及び図7（b）に示されるようなチャンネル毎の検出光強度を導出することができる。図7（a）及び図7（b）において検出光強度が他と比べて大きくなっているチャンネルは、複合体が捕捉されている測定対象部504の位置に対応するチャンネルである。

20

#### 【0051】

図7（a）に示されるように、散乱光に応じた信号成分（ノイズ）の除去が行われていない場合には、検出光には蛍光だけでなく散乱光が含まれるため、検出光強度が大きくなっている。そして、このようなノイズは励起光量を大きくすることに伴って大きくなるため、図7（a）に示されるように、励起光量を2倍にするとノイズも同様に2倍程度になっている。一般的にS/Nを向上させる方法として、励起光量を増加させることにより蛍光シグナル量を増加させる方法が考えられるが、上述したように、図7（a）のように励起光量に応じてノイズも増加する状態においては、S/Nを向上させることが難しい。さらに、励起光量を増加させることによってダイナミックレンジが狭まるという問題もある。

30

#### 【0052】

一方で、図7（b）に示されるように、散乱光に応じた信号成分（ノイズ）の除去を行った場合には、検出光には概ね蛍光のみが含まれており、検出したい信号（蛍光に基づく信号）のみを検出することができている。この場合には、ノイズがほぼ0であるため、図7（b）に示されるように、励起光量を増加させても（例えば2倍にしても）、光検出器が飽和しない限り、励起光（散乱光）の影響をほぼ0にキャンセルすることができ、ノイズが極端に大きくなることがない。以上のように、図7（b）に示されるようなノイズの除去を行う構成においては、励起光を増加させた場合にノイズ成分をほぼ0にキャンセルした状態でシグナル成分のみを増加させることができるため、S/Nの向上につながる。当該構成は、ノイズ成分に非常に強いため、励起光量を増加させることやI/V変換アンプの増倍率を上げることが可能となる。

40

#### 【0053】

図9は、S/Nの定義について説明する図である。図9は、チャンネル毎の検出光の強度（測定領域の各位置における検出光の強度）の一例を示している。図9に示されるように、検出光の強度10count付近に±4程度のゆらぎ成分が存在している。このようなベース光量のゆらぎ（標準偏差）は、蛍光物質等が何も塗布されていない測定部501（或いは、計測状態と同様にぬれた状態とされた測定部501）に励起光をスキャンして取得される値である。以下では、当該ベース光量のゆらぎをノイズNと定義する。また、

50

シグナルSは、「測定対象部504のピーク蛍光強度から全チャンネルにおける測定対象部504の位置を除いたノイズ成分の平均値を差し引いた値」と定義する。S/Nは、上記で定義したシグナルをノイズで割った値と定義する。

#### 【0054】

なお、図9に示される例では、ノイズの値が10countほどオフセットしている。後述するキャリブレーション処理を行うことによって、原理的にはノイズの値はほぼ0にキャンセルされる。しかし、ノイズの値に応じたバックグラウンドはばらつきがあるところ、ソフトでの解析の観点からは信号が常にプラスの値となることが好ましいため、バックグラウンドのオフセット処理を行っている。なお、オフセット量は、信号がダイナミックレンジ内(0~4096count内)に収まるように設定される。オフセット量は、ダイナミックレンジの観点から極力少なくしつつ、測定部501に励起光をスキャンすることにより得られるバックグラウンドの信号が常に(ほぼ確実に)プラスの値となるように設定されている。具体的には、オフセット量は、例えば、蛍光物質等が何も塗布されていない測定部501(或いは、計測状態と同様にぬれた状態とされた測定部501)に励起光をスキャンして取得される検出光の強度平均値+該強度平均値の6の値とされてもよい。なお、回路系に突発的なノイズが飛び込んでくる場合に備えて、上記で計算されるオフセット量に適当なマージンを加えて最終的なオフセット量とされてもよい。オフセット量は、ダイナミックレンジを犠牲にせず且つ信号がマイナスに出力されないように選択され、例えば+20count程度であってもよい。

#### 【0055】

次に、散乱光に応じた信号成分(ノイズ)の除去手法について、具体的に説明する。光学測定装置1では、ロックイン回路であるキャンセル回路60においてキャリブレーション処理が行われ、該キャリブレーション処理の実施結果が考慮されて、検出信号から散乱光に応じた信号成分(ノイズ)が除去される。

#### 【0056】

具体的には、光学測定装置1を用いた光学測定方法では、最初に、試料500とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材600(図15(a)参照)に励起光が照射されるように、照射光学系10の光学ヘッドが配置される。つづいて、照射光学系10からの励起光がリファレンス部材600に照射されることによる散乱光(リファレンス部材600において散乱した励起光成分)が検出光学系20の光検出素子21において検出される。ここで検出光学系20に検出される光は、基本的には、リファレンス部材600における蛍光を含まない散乱光のみの光であり、キャリブレーション処理に用いられるキャリブレーション処理用光である。

#### 【0057】

つづいて、キャリブレーション処理が実施される。具体的には、光学測定装置1のキャンセル回路60が、上述したキャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施する。キャリブレーション処理の詳細については後述する。そして、キャリブレーション処理の完了後、試料500の測定領域(測定部501)上を照射光学系10の光学ヘッドでスキャンすることにより、測定部501の蛍光情報が取得される。具体的には、キャンセル回路60が、上述したキャリブレーション処理の実施結果を考慮して、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去することにより、蛍光情報を取得する。

#### 【0058】

次に、キャリブレーション処理の詳細について説明する。光学測定装置1のキャンセル回路60は、例えばFPGA(Field Programmable Gate Array)を利用したロックイン回路である。キャリブレーション処理において、キャンセル回路60は、光源駆動回路30によって設定される光源11の変調周波数(例えばDDS(Direct Digital Synthesizer)の周波数)に合わせた、キャンセル回路60の動作周波数で周期を刻む周期信号に対して位相をずらしたロックイン用のスイッチ信号を生成する。そして、ロックイン回路として機能するキャンセル回路60は、測定信号であるキャリブレーション信号、及び、参照

信号であるスイッチ信号を入力として、散乱光に応じた信号成分を出力し、該散乱光に応じた信号成分の電圧値が0に近似する所定範囲内（スラッシュレベル）となるように、スイッチ信号の位相を調整する。

【0059】

図10は、キャンセル回路60のFPGA内部でキャリブレーション処理に用いる信号を示している。図10に示される周期信号は、上述したようにDDSの周波数に合わせて周期を刻むクロック信号である。基準信号は、周期信号から任意の位相にある（周期信号に対して位相をずらした）、周期信号と同じ周波数の信号であり、後述するXY信号用のトリガである。XY信号は、上述したロックイン用のスイッチ信号であり、基準信号をトリガにして作られる信号である。X信号（第1信号）は、基準信号と位相差がない信号である。Y信号（第2信号）は、基準信号に対して90度位相がずれた信号である。キャンセル回路60は、実際にはX信号及びY信号に加えて、更に、X信号を反転させたX'信号（第3信号）と、Y信号を反転させたY'信号（第4信号）とを生成する。X信号、Y信号、X'信号、及びY'信号は、それぞれ独立した専用の回路によって生成される。散乱光に応じた信号成分の電圧値がスラッシュレベルとなるようにスイッチ信号の位相を調整するとは、すなわち、キャンセル回路60からの出力が0V（またはそれに近似する値）になるまで、周期信号に対して基準信号の位相をずらし続けることである。

10

【0060】

図11は、周期信号に対して基準信号の位相をずらして出力が0Vになるように調整する処理を説明する図である。いま、周期信号、基準信号、及びスイッチ信号の初期状態の位相関係が図11(a)に示される状態であったとする。そして、スイッチ信号に基づいて図11中の網掛けの区間で積分処理がなされ、出力（散乱光に応じた信号成分の電圧値）がスラッシュレベルではなく且つ正の値であったとする。この場合、図11(b)に示されるように、スイッチ信号の位相を遅らせるように基準信号の位相が調整される。すなわち、キャンセル回路60は、キャリブレーション処理において、散乱光に応じた信号成分の電圧値がスラッシュレベルではなく正の値である場合には、スイッチ信号の位相を遅らせるように調整する。

20

【0061】

いま、スイッチ信号の位相調整がなされた図11(b)の状態においても、網掛けの区間の積分処理の結果、出力（散乱光に応じた信号成分の電圧値）がスラッシュレベルではなく且つ正の値であったとする。この場合、図11(c)に示されるように、更にスイッチ信号の位相を遅らせるように基準信号の位相が調整される。

30

【0062】

いま、スイッチ信号の位相調整がなされた図11(c)の状態においても、網掛けの区間の積分処理の結果、出力（散乱光に応じた信号成分の電圧値）がスラッシュレベルではなく且つ正の値であったとする。この場合、図11(d)に示されるように、更にスイッチ信号の位相を遅らせるように基準信号の位相が調整される。

【0063】

いま、スイッチ信号の位相調整がなされた図11(d)の状態において、網掛けの区間の積分処理の結果、出力（散乱光に応じた信号成分の電圧値）がスラッシュレベルではなく且つ負の値であったとする。この場合、図11(e)に示されるように、スイッチ信号の位相を進めるように基準信号の位相が調整される。すなわち、キャンセル回路60は、キャリブレーション処理において、散乱光に応じた信号成分の電圧値がスラッシュレベルではなく負の値である場合には、スイッチ信号の位相を進めるように調整する。

40

【0064】

そして、スイッチ信号の位相を進めるように調整された結果、図11(e)に示されるように、網掛けの区間の積分処理の結果、出力（散乱光に応じた信号成分の電圧値）がスラッシュレベル（0に近似する所定範囲内の値）になると、キャリブレーション処理が完了する。

【0065】

50

キャリブレーション処理が完了すると、キャンセル回路 60 は、蛍光成分及び散乱光成分（励起光成分）を含んだ検出光に応じた検出信号と、キャリブレーション処理において位相が調整されたスイッチ信号とを入力として、検出信号から散乱光成分に応じた信号成分を除去する。

#### 【0066】

図 13 は、キャリブレーション処理を示すフローチャートである。図 13 に示されるように、キャリブレーション処理では、最初に、AD 変換器への入力が入力のオフセット電圧に切り替えられて 0 レベルが記憶される（ステップ S11）。そして、スイッチの切り替えによりキャンセル回路 60（ロックイン回路）の信号が AD 変換器に入力される（ステップ S12）。この状態で、一度強制的に基準信号の位相がずらされる（ステップ S13）。キャンセル回路 60（ロックイン回路）の出力は周期信号に対する基準信号の位相が 0 度と 180 度のときに 0 V となるが、初期状態で偶然 180 度に位相が合っていた場合、誤ってキャリブレーション処理を完了してしまい、出力される信号の正負が反転してしまうため、後段の回路の構成によっては出力される信号を検出できなくなる場合がある。この点、スタート時に強制的に基準信号の位相をずらすことにより、誤ってキャリブレーション処理が完了してしまうことを防止できる。また、このようにして開始時の位相を合わせることで、出力される信号の正負が固定される。その結果、出力される信号をデジタル値に変換した際の符号ビットがなくなり、AD 変換器のダイナミックレンジを有効に使用することができる。また、負の出力で計測したいときは、キャリブレーション完了の位相を 0 度ではなく 180 度にしてもよい。

#### 【0067】

ステップ S13 が完了すると、現在の AD 変換器の入力値が記録され（ステップ S14）、キャリブレーションのループ処理が実行される。まず、現在の AD 変換器の入力値と 0 レベルとが比較されて、AD 変換器の入力値が 0 レベルよりも小さいか（負の値であるか）否かが判定される（ステップ S15）。ステップ S15 において AD 変換器の入力値が負の値であると判定されると、DDS の周波数に応じた周期信号に対するキャンセル回路 60 のスイッチ信号（すなわち基準信号）の位相が進められる（ステップ S16）。一方で、ステップ S15 において AD 変換器の入力値が正の値であると判定されると、周期信号に対するキャンセル回路 60 のスイッチ信号（すなわち基準信号）の位相が遅らされる（ステップ S17）。

#### 【0068】

そして、AD 変換器の入力値について、符号が変化せずにスラッシュレベルとなったか否かが判定される（ステップ S18）。ステップ S18 において符号が変化せずにスラッシュレベルになったと判定されると、キャリブレーション処理が終了する。一方で、ステップ S18 において条件を満たしていないと判定されると、位相をずらしたことにより AD 変換器の入力の符号が変わったか否かが判定される（ステップ S19）。ステップ S19 において変わっていないと判定された場合には再度ステップ S14 の処理が行われ、変わっていると判定された場合には制御による位相の変化幅が現状の半分に変更されて（ステップ S20）、再度ステップ S14 の処理が行われる。以上が、キャリブレーション処理である。

#### 【0069】

本態様では、蛍光を含まず散乱光を含むキャリブレーション処理用光を検出し、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施し、該キャリブレーション処理の実施結果を考慮して、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去する。検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を、散乱光を含むキャリブレーション処理用光に基づき予め行うことによって、検出信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することができる。

#### 【0070】

このようにして散乱光（ノイズ）を適切に除去することの効果について、図 14 を参照

10

20

30

40

50



して説明する。図14(a)は散乱光に応じた信号成分(ノイズ)の除去を行わなかった場合の検出光の強度、図14(b)は散乱光に応じた信号成分(ノイズ)の除去を行った場合の検出光の強度を示している。図14は、蛍光試薬としてDTBTA-Eu<sup>3+</sup>を塗布したメンブレンを計測した場合の結果を示している。図14(a)に示されるように、ノイズの除去が行われていない場合においては、励起光(散乱光)のバックグラウンド(BKG)のために約330 countsのオフセットが必要になっている。そして、ノイズ(標準偏差)は2.16、シグナル強度は404 countsであった。これに対して、図14(b)に示されるように、ノイズの除去が行われている場合においては、励起光がメンブレンに散乱することを考慮したオフセットが必要とならず、ソフト上の処理(信号の値を全てプラスにする処理)のための最低限のオフセットのみが行われている。そして、ノイズ(標準偏差)は0.69、シグナル強度は1475 countsとすることができた。このように、ノイズの除去が行われている場合においてはオフセット量が小さいため、光源からの励起光量及びI/V変換アンプの増幅率を上げることができ、シグナル強度を好適に上げることができる。この結果、ノイズの除去が行われない場合のS/Nが187であるのに対して、ノイズの除去が行われる場合のS/Nを2140とすることができ、S/Nを10倍以上向上させることができる。

10

#### 【0071】

キャリブレーション処理において、光源11の変調周波数に合わせたキャンセル回路60の動作周波数で周期を刻む周期信号に対して位相をずらしたロックイン用のスイッチ信号を生成し、キャリブレーション信号及びスイッチ信号を入力として、散乱光に応じた信号成分を出力し、該散乱光に応じた信号成分の電圧値が0に近似する所定範囲内となるように、スイッチ信号の位相を調整し、検出信号、及び、キャリブレーション処理において位相が調整されたスイッチ信号を入力として、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去してもよい。このように、ロックイン回路を用いて、キャリブレーション処理において散乱光に応じた信号成分の電圧値が0に近似する値となるようにスイッチ信号の位相が調整されることにより、位相調整後のスイッチ信号を入力として、検出信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することができる。

20

#### 【0072】

キャリブレーション処理において、散乱光に応じた信号成分の電圧値が所定範囲内ではなく該所定範囲の値よりも大きい場合には、スイッチ信号の位相を遅らせるように調整し、散乱光に応じた信号成分の電圧値が所定範囲内ではなく該所定範囲の値よりも小さい場合には、スイッチ信号の位相を進めるように調整してもよい。これにより、キャリブレーション処理において散乱光に応じた信号成分の電圧値を、適切に0に近い値に調整することができる。

30

#### 【0073】

光源11の変調周波数を、蛍光の強度がピーク値から1/eに落ちるまでの時間である蛍光寿命に対応する値よりも低くしてもよい。変調周波数が蛍光寿命に対応する値程度に高くされた場合には、連続する信号が互いに重なってしまう場合があり蛍光強度を最大化することができない。この点、変調周波数が蛍光寿命に対応する値よりも低くされることにより、蛍光強度を適切に高めることができる。

40

#### 【0074】

光源11の変調周波数を、蛍光寿命に対応する値よりも低く、且つ、商用周波数よりも高くしてもよい。これにより、変調周波数が蛍光寿命に対応する値よりも高くなり蛍光強度が弱まることを回避しながら、ノイズの増加を回避することができる。

#### 【0075】

ロックイン用のスイッチ信号として、X信号と、該X信号に対して位相が90度ずれたY信号と、X信号を反転させたX'信号と、Y信号を反転させたY'信号とを、それぞれ独立した専用の回路を用いて生成してもよい。独立した専用の回路で反転信号が生成されることにより、例えばnot回路により反転信号を生成する場合に問題となる微小な遅延(not回路の通過に伴う微小な遅延)が発生することを防止できる。

50

## 【 0 0 7 6 】

キャンセル回路 6 0 ( ロックイン回路 ) は、 2 種類の動作周波数が所定の割合で切り替えて設定されてもよい。これにより、動作周波数が 1 種類とされる場合よりも、ロックイン回路の動作周波数を光源 1 1 の変調周波数に合わせやすくなり、これらの同期制度を向上させることができる。

## 【 0 0 7 7 】

キャリブレーション処理用光は、試料 5 0 0 における、測定対象部 5 0 4 に固定された捕捉抗体よりも下流側の領域に励起光が照射されることにより検出されてもよい。蛍光成分は捕捉抗体よりも上流側に滞留しやすいところ、補足抗体の下流側の領域に励起光が照射されてキャリブレーション処理用光が検出されることにより、適切に、蛍光成分の影響を低減したキャリブレーション処理用光を検出することができる。

10

## 【 0 0 7 8 】

次に、上述した蛍光測定におけるキャリブレーション処理の具体的な態様 ( 第 1 ~ 第 3 の態様 ) について、図 1 5 ~ 図 2 9 を参照して説明する。各態様では、キャリブレーション処理方法が互いに異なっている。具体的には、第 1 の態様では、リファレンス部材に照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出することによりキャリブレーション処理を実施する。第 2 の態様では、検出光学系がキャリブレーション処理用光として照射光を直接検出することによりキャリブレーション処理を実施する。第 3 の態様では、疑似信号であるキャリブレーション信号を生成することによりキャリブレーション処理を実施する。なお、第 1 の態様の光学測定装置 1 ( 図 1 参照。すでに説明した構成 ) と、第 2 の態様の光学測定装置 7 0 1 ( 図 2 3 参照 ) 及び第 3 の態様の光学測定装置 8 0 1 ( 図 2 7 参照 ) とは、互いに構成の一部が異なっている。以下、各態様について、詳細に説明する。

20

## 【 0 0 7 9 】

## [ 第 1 の態様 ]

図 1 5 は、第 1 の態様の蛍光測定手順について説明する図である。図 1 5 ( a ) に示されるように、第 1 の態様の蛍光測定では、最初に、照射光学系 1 0 の光源 1 1 が、測定対象物である試料 5 0 0 とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材 6 0 0 に照射光を照射し、検出光学系 2 0 の光検出素子 2 1 が、照射光が照射されたリファレンス部材 6 0 0 からの照射光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光を検出する。そして、信号処理部であるキャンセル回路 6 0 ( 図 1 参照 ) が、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づきキャリブレーション処理を実施する。以上が第 1 の態様における第 1 処理である。

30

## 【 0 0 8 0 】

その後、図 1 5 ( b ) に示されるように、光源 1 1 が、測定対象物である試料 5 0 0 に励起光 ( 照射光 ) を照射し、光検出素子 2 1 が、励起光が照射された試料 5 0 0 から生じる蛍光、及び、励起光が照射された試料 5 0 0 からの励起光の散乱光を含む測定対象光を検出する。そして、信号処理部であるキャンセル回路 6 0 ( 図 1 参照 ) が、キャリブレーション処理の実施結果を考慮し、測定対象光に応じた測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去する。以上が第 1 の態様における第 2 処理である。図 1 5 ( a ) 及び図 1 5 ( b ) を正面図とすると、図 1 5 ( c ) は右側面図である。図 1 5 ( c ) に示されるように、試料 5 0 0 からの蛍光を取得する際には、試料 5 0 0 の測定領域上を照射光学系 1 0 の光学ヘッドでスキャンすることにより、試料 5 0 0 の測定対象部 5 0 4 の蛍光情報が取得される。

40

## 【 0 0 8 1 】

このような蛍光測定は、より詳細には図 1 8 に示される構成によって実現されている。すなわち、最初にキャリブレーション処理が実施される場合には、サンプルステージに載置された試料 5 0 0 とは異なる位置、具体的には、固定部位 6 0 2 から略垂直に延びる固定部位 6 0 1 に固定されたリファレンス部材 6 0 0 に照射光が照射されるように、照射光学系 1 0 の光学ヘッドが配置される。そして、キャリブレーション処理が完了すると試料 5 0 0 に励起光 ( 照射光 ) が照射されるように照射光学系 1 0 の光学ヘッドが移動し、試

50

料 5 0 0 の測定対象部 5 0 4 の蛍光情報が取得されるように照射光学系 1 0 の光学ヘッドがスキャン動作を行う。

#### 【 0 0 8 2 】

ここで、第 1 の態様におけるリファレンス部材 6 0 0 は、照射光を反射し、且つ、照射光の照射によりそれ自体が蛍光を発生しない部材であることが好ましい。なお、本願における、照射光の照射により蛍光を発生しないとは、照射光の照射によってもリファレンス部材 6 0 0 に起因する蛍光が発生しない、或いは、無視できる程度にしか蛍光を発生しないことを示す。一方、図 1 6 は蛍光を発生するリファレンス部材を用いた場合のキャリブレーションの効果について説明する図であり、図 1 6 ( a ) はあるリファレンス部材に照射光を照射する場合に検出される蛍光を含むキャリブレーション処理用光を示しており、図 1 6 ( b ) は図 1 6 ( a ) に示すキャリブレーション処理用光に係るキャリブレーション結果に基づく試料 5 0 0 の蛍光測定の結果を示している。図 1 6 ( a ) では、横軸に波長、縦軸に光強度が示されており、光検出器 ( 光検出素子 2 1 ) が検出可能な最低波長が破線で示されている。図 1 6 ( b ) では、横軸にチャンネル、縦軸に光強度が示されている。図 1 6 ( a ) には、ある蛍光を発生するリファレンス部材を 3 8 0 n m の照射光で励起した場合に、光検出素子 2 1 が検出可能な波長の蛍光、具体的には 6 0 0 ~ 8 5 0 n m 程度の蛍光が検出されていることが示されている。このように、蛍光を発生するリファレンス部材に照射光が照射された場合には、光検出素子 2 1 において散乱光 ( 照射光 ) だけでなくリファレンス部材からの蛍光が検出されてしまう。すなわち、光検出素子 2 1 においては、蛍光を含むキャリブレーション処理用光が検出されてしまう。このような蛍光を含んだキャリブレーション処理用光に基づいてキャリブレーション処理が行われる場合には、キャリブレーション信号を用いて、装置の出力の電圧値が 0 になるようにスイッチ信号の位相を調整する際に、スイッチ信号の位相が蛍光成分の影響を受けた位相に調整されてしまう ( 蛍光成分の位相にロックインしてしまう ) 。これにより、図 1 6 ( b ) に示されるように、キャリブレーション結果を考慮して試料 5 0 0 の蛍光測定を行うと、キャリブレーション処理時にリファレンス部材からの蛍光成分が除去 ( キャンセル ) されるようにスイッチ信号が調整されている影響で、試料 5 0 0 からの蛍光の波形を取得できないおそれがある。図 1 6 ( b ) には、いずれのチャンネルにおいても試料 5 0 0 からの蛍光の波形が取得できていない例が示されている。

#### 【 0 0 8 3 】

図 1 7 は、対して、蛍光を発生しないリファレンス部材を用いた場合のキャリブレーションの効果について説明する図であり、図 1 7 ( a ) はあるリファレンス部材に照射光を照射する場合に検出されるキャリブレーション処理用光を示しており、図 1 7 ( b ) は図 1 7 ( a ) に示すキャリブレーション処理用光に係るキャリブレーション結果に基づく試料 5 0 0 の蛍光測定の結果を示している。図 1 7 ( a ) では、横軸に波長、縦軸に光強度が示されており、光検出器 ( 光検出素子 2 1 ) が検出可能な最低波長が破線で示されている。図 1 7 ( b ) では、横軸にチャンネル、縦軸に光強度が示されている。図 1 7 ( a ) には、ある蛍光を発生しないリファレンス部材に対して 3 8 0 n m の照射光を照射した場合において蛍光が検出されていない ( 或いは無視できる程度に微量しか検出されていない ) ことが示されている。このように、キャリブレーション処理用光に蛍光が含まれておれず概ね散乱光のみが含まれている場合には、図 1 7 ( b ) に示されるように、キャリブレーション結果を考慮して試料 5 0 0 の蛍光計測を行うと、試料 5 0 0 からの散乱光に応じた信号成分のみが除去 ( キャンセル ) されて、試料 5 0 0 からの蛍光の波形を適切に取得することができる。以上のことから、リファレンス部材 6 0 0 は、それ自体が蛍光を発生しない部材であることが好ましいと言える。

#### 【 0 0 8 4 】

つづいて、リファレンス部材 6 0 0 の一例として、図 1 9 ~ 図 2 1 に示される各例を説明する。図 1 9 は、リファレンス部材 6 0 0 としてミラー 6 0 0 A を用いる場合の散乱光取得について説明する図である。図 1 9 に示されるように、リファレンス部材 6 0 0 はミラー 6 0 0 A を含んでいてもよい。ミラー 6 0 0 A は、照射光を反射することができるミ

ラーであればどのようなミラーであってもよいが、より好ましくはミラー 600A が照射光の照射により蛍光を発生しない（ミラー 600A に起因する蛍光が発生しない、或いは、無視できる程度にしか蛍光を発生しない）材料から形成されるとより好ましい。ミラー 600A は、例えば表面が汚れにくいミラーであってもよい。ミラー 600A は、光源 11 から照射された照射光を反射する。ミラー 600A は、反射した照射光（散乱光）が光検出素子 21 に検出されるように、傾斜角度が調整されている。ミラー 600A は、調整機構（不図示）によって所定の傾斜角度に固定されている。光検出素子 21 に対するミラー 600A の傾斜角度が適切に調整されることにより、光検出素子 21 において検出される光量を大きくすることができる。

#### 【0085】

図 20 は、リファレンス部材 600 として反射拡散体 600B を用いる場合の散乱光取得について説明する図である。図 20 に示されるように、リファレンス部材 600 は反射拡散体 600B を含んでいてもよい。反射拡散体 600B は、例えば、それ自身が照射光の照射により蛍光を発生しない（反射拡散体 600B に起因する蛍光が発生しない、或いは、無視できる程度にしか蛍光を発生しない）材料から形成された部材であって、光検出素子 21 への入射光量が比較的安定する白色部材からなる反射拡散板である。反射拡散体 600B は、光源 11 から照射された照射光を様々な角度に拡散するように反射する。反射拡散体 600B は、反射した照射光（散乱光）が大きな光量で光検出素子 21 に検出される位置に配置されている。反射拡散体 600B は、例えば樹脂やセラミックからなる一体成型部材であるのが好ましいが、切削加工や複数部材の組み合わせ等により形成されて

#### 【0086】

図 21 は、リファレンス部材 600 としてミラー 611（反射基材）とすりガラス 610（拡散体）とを用いる場合の散乱光取得について説明する図である。図 21 に示されるように、リファレンス部材 600 は照射光を透過するガラス部材であるすりガラス 610 及び照射光を反射するミラー 611 を含むリファレンス部材 600C を含んでいてもよい。リファレンス部材 600C において、すりガラス 610 は、ミラー 611 に支持（積層）されるように設けられ、ミラー 611 よりも先に照射光が入射するように設けられている。すりガラス 610 は、例えば 380nm 以上の照射光を透過する材料で形成されており、表面（照射光の入射面）に凸凹状の凸凹部 610a が形成されている。または、すりガラス 610 の表面に照射光を特定角度に散乱可能なフィルム等を設けてもよい。ミラー 611 は、照射光を反射するものであればよく、例えばアルミ等からなる板状金属部材や、アルミ等の金属膜でその表面を被覆した板状部材であり、すりガラス 610 を収容するように箱状の部材としてもよい。また、ミラー 611 及びすりガラス 610 は、ともに照射光の照射により蛍光を発生しない（ミラー 611 及びすりガラス 610 に起因する蛍光が発生しない、或いは、無視できる程度にしか蛍光を発生しない）材料から形成されるとより好ましい。図 21 に示されるように、リファレンス部材 600C では、すりガラス 610 に入射した照射光が凸凹部 610a において拡散しながらすりガラス 610 の内部を透過してミラー 611 に到達し、ミラー 611 において反射され、再度すりガラス 610 の内部を透過してすりガラス 610 の表面に到達し、その凸凹部 610a において様々な方向に拡散して出射される（様々な角度の散乱光が生じる）。様々な角度の散乱光が生じることによって、十分な光量の散乱光が光検出素子 21 において検出されることになる。なお、リファレンス部材 600C においては、表面が粗面化された反射材を用いてもよく、その場合、反射材の表面の粗面部が照射光を拡散する拡散体に相当する。

#### 【0087】

次に、図 22 を参照して、第 1 の態様の蛍光測定処理を説明する。図 22 は、第 1 の態様の蛍光測定処理を示すフローチャートである。図 22 に示されるように、第 1 の態様の蛍光測定処理では、最初に、試料 500 とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材 600 に照射光が照射されるように照射光学系 10 の光学ヘッドが配置される（

10

20

30

40

50

ステップS31。図15(a)参照)。そして、照射光が照射されたリファレンス部材600からの照射光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光が光検出素子21において検出される(ステップS32。図15(a)参照)。そして、キャンセル回路60において、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理が実施される(ステップS33)。キャリブレーション処理の詳細については、図10~図13等を参照して上述したとおりであるので、説明を省略する。

#### 【0088】

つづいて、試料500の測定エリア領域を照射光学系10の光学ヘッドがスキャンするように動作して試料500の測定対象部504に励起光(照射光)が照射されることにより(ステップS34。図15(c)参照)、励起光が照射された試料500から生じる蛍光及び励起光が照射された試料500からの励起光の散乱光を含む測定対象光が光検出素子21において検出される(ステップS35。図15(b)参照)。そして、キャンセル回路60において、ステップS33のキャリブレーション処理の実施結果に基づいて、上述した測定対象光に応じた測定信号から散乱光に応じた信号成分が除去される(ステップS36)。具体的には、上述したように、キャンセル回路60は、測定信号とキャリブレーション処理において位相が調整されたスイッチ信号とを入力として、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去する。

#### 【0089】

次に、第1の態様に係る作用効果について説明する。

#### 【0090】

第1の態様に係る光学測定装置1は、照射対象に照射光(励起光)を照射する照射光学系10と、照射光(励起光)に起因する検出光を検出する検出光学系20と、検出光に応じた検出信号を処理するキャンセル回路60とを備えている。そして、光学測定装置1では、第1処理において、照射光学系10が、試料500とは異なるキャリブレーション処理用のリファレンス部材600を照射対象として該リファレンス部材600に照射光を照射し(図15(a)参照)、検出光学系20が、照射光が照射されたリファレンス部材600からの照射光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光を検出光として検出し(図15(a)参照)、キャンセル回路60が、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を検出信号として、キャリブレーション信号に基づき、後述する第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施する。また、光学測定装置1では、第2処理において、照射光学系10が、試料500を照射対象として、試料500に励起光(照射光)を照射し(図15(b)参照)、検出光学系20が、励起光が照射された試料500から生じる蛍光、及び、励起光が照射された試料500からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し(図15(b)参照)、キャンセル回路60が、測定対象光に応じた測定信号を検出信号として、測定信号から、第1処理におけるキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去する。

#### 【0091】

このように、光学測定装置1では、キャリブレーション処理に係る第1処理において、試料500とは異なるリファレンス部材600に照射光が照射されて散乱光を含むキャリブレーション処理用光が検出されている。このことにより、例えば照射光の照射によっては蛍光を生じない(或いは、無視できる程度にしか蛍光を生じない)リファレンス部材600を準備することによって、蛍光を含まない(或いは、無視できる程度にしか蛍光を含まない)キャリブレーション処理用光を検出することが可能になる。このことで、第2処理において、キャリブレーション処理の実施結果に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分のみを適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。また、試料500(実サンプル)とは異なる、キャリブレーション処理用のリファレンス部材600が用いられることにより、例えば実サンプルに照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する場合に問題となる、実サン

10

20

30

40

50

ブルの特性（蛍光物質の移動速度等の違いによって決まる特性）に応じたキャリブレーション処理の結果のばらつきが生じない。より具体的には、実サンプルは例えば製造ロットの違いによる特性のばらつきがある場合があり、例えば蛍光物質の移動速度等といった違いが生じたりする場合がある。その場合、実サンプルごとに、キャリブレーション処理時において照射光が照射される領域エリアの蛍光物質質量（つまり蛍光発光量）が互いに異なってしまう可能性がある。このことにより、キャリブレーション処理の結果が安定せず、例えば光学測定の結果の判定に十分な信頼性が得られないおそれがあるが、リファレンス部材 600 が用いられることにより、蛍光測定をより高精度に行うことができる。こまた、実サンプルごとの特性の違いに応じて装置が出力する結果が異なる場合には、例えばイムノクロマト法を用いた測定において陽性・陰性判定をするための閾値の設定が難しくなるが、リファレンス部材 600 を用いてキャリブレーションを行う場合にはこのような問題も抑制することができる。また、例えば互いに形状の異なる複数の試料 500（例えば各種抗原毎に個別に対応する複数のイムノクロマト試験片試薬キット）を 1 台の光学測定装置 1 で計測する場合においても、それぞれの試料 500 毎に適切なキャリブレーション領域を設定する必要がなく、キャリブレーション処理については 1 つのリファレンス部材 600 を用いて行うことができるため、ハード面での制御やソフト面での制御を単純化することができる。なお、例えば実サンプルに照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する場合と比較しても、光学測定装置 1 自体の構成を大きく変化させる必要がないため、本態様はコストの点で優位である。また、実測値からキャリブレーション処理を行うため、本態様はキャリブレーション処理の精度を担保することができる（キャリブレーション処理において正確な位相合わせを行うことができる）。このように、本態様に係る光学測定装置 1 によれば、キャリブレーション処理をより適切に行うことができ、照射光自体に起因するノイズ成分をより適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。

#### 【0092】

リファレンス部材 600 は、図 19～図 21 に示されるように照射光を反射する反射部材（ミラー 600A、ミラー 611、反射拡散体 600B）を含んでいてもよい。このような構成によれば、検出光の光量を容易に大きくすることができる。さらに、反射部材は、照射光の照射により蛍光を発生しないのが好ましい。このような構成によれば、照射光の照射によっても、反射部材に起因する蛍光が発生しない（或いは、無視できる程度にしか蛍光を発生しない）ため、第 2 処理において、測定信号から散乱光成分に応じた信号成分のみを確実に除去することができる。

#### 【0093】

リファレンス部材 600 は、図 20 に示されるように、照射光を拡散する反射拡散体 600B を含んでいてもよい。このような構成によれば、反射拡散体 600B によって様々な角度の散乱光を容易に生じさせることができ、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。また、このような構成では、リファレンス部材を単純な構成とすることができるため、加工性やコストの点で優位である。

#### 【0094】

リファレンス部材 600 は、図 21 に示されるように、照射光を反射するミラー 611 と、ミラー 611 に支持され、照射光を拡散するすりガラス 610 を含んでいてもよい。このような構成によれば、ミラー 611 とガラス 610 との協働によって、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。また、すりガラス 610 の表面には凸凹部 610a が形成されているので、様々な角度の散乱光を容易に生じさせることができ、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。

#### 【0095】

リファレンス部材 600 は、図 19 に示されるように、ミラーを含んでいてもよい。このような構成によれば、光検出素子 21 に対するミラーの反射角度を調整することにより、検出光の光量をより容易に大きくすることができる。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 9 6 】

## [ 第 2 の 態 様 ]

図 2 3 は、第 2 の態様の光学測定装置 7 0 1 の概略構成図である。第 2 の態様の光学測定装置 7 0 1 は、上述した光学測定装置 1 ( 図 1 参照 ) と概ね同様の構成であるが、図 2 3 に示されるように、検出光学系 7 2 0 ( 第 1 の検出光学系 ) の光検出素子 7 2 1 を備えている点、及び、I V 変換アンプ 7 4 0 を備えている点において、光学測定装置 1 と異なっている。光検出素子 7 2 1 は、検出光学系 2 0 ( 第 2 の検出光学系 ) の光検出素子 2 1 とは別の構成である。また、I V 変換アンプ 7 4 0 は、I V 変換アンプ 4 0 とは別の構成である。光検出素子 7 2 1 は、キャリブレーション処理に係る処理として、照射光学系 1 0 から照射される照射光 ( キャリブレーション処理用光 ) を検出光として直接検出する。光検出素子 7 2 1 は、検出光に応じた検出信号を I V 変換アンプ 7 4 0 に出力する。I V 変換アンプ 7 4 0 は、キャリブレーション処理に係る処理として、光検出素子 7 2 1 から入力された電力信号 ( 検出信号 ) を電圧信号に変換する。I V 変換アンプ 7 4 0 は、電圧信号に変換した検出信号を波形生成回路 5 0 に出力する。この場合、波形生成回路 5 0 は、I V 変換アンプ 7 4 0 から入力された検出信号に基づいて、検出信号の波形を生成し、生成した波形 ( 検出信号 ) の情報をキャンセル回路 6 0 に出力する。

10

## 【 0 0 9 7 】

図 2 4 は、第 2 の態様における蛍光測定の概要を説明する図である。図 2 4 に示されるように、第 2 の態様の蛍光測定では、最初にキャリブレーション処理が実施される場合には、サンプルステージに載置された試料 5 0 0 とは異なる位置、具体的には、固定部位 6 0 2 から略垂直に延びる固定部位 6 0 1 に固定された光検出素子 7 2 1 に照射光が照射されるように、照射光学系 1 0 の光学ヘッドが配置される。このようにして照射光取得が行われることにより、照射光であるキャリブレーション処理用光が検出される。そして、キャリブレーション処理が完了すると試料 5 0 0 に励起光 ( 照射光 ) が照射されるように照射光学系 1 0 の光学ヘッドが移動し、試料 5 0 0 の測定対象部 5 0 4 の蛍光情報が取得されるように照射光学系 1 0 の光学ヘッドがスキャン動作を行う。

20

## 【 0 0 9 8 】

図 2 5 は、第 2 の態様の励起光取得について説明する図である。図 2 5 ( a ) に示されるように、第 2 の態様の照射光取得では、照射光学系 1 0 の光源 1 1 が検出光学系 7 2 0 の光検出素子 7 2 1 に照射光を照射する。これにより、光検出素子 7 2 1 が、照射光であるキャリブレーション処理用光を直接検出する。そして、信号処理部であるキャンセル回路 6 0 が、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づきキャリブレーション処理を実施する。照射光は散乱光と同じ位相を持つ光である。このため、光検出素子 7 2 1 が照射光をキャリブレーション処理用光として検出することによっても、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を適切に行うことができる。なお、キャリブレーション処理後の処理 ( 第 2 処理 ) については、第 1 の態様と同様であるので説明を省略する。

30

## 【 0 0 9 9 】

次に、図 2 6 を参照して、第 2 の態様の蛍光測定処理を説明する。図 2 6 は、第 2 の態様の蛍光測定処理を示すフローチャートである。図 2 6 に示されるように、第 2 の態様の蛍光測定処理では、最初に、試料 5 0 0 とは異なる位置に固定された光検出素子 7 2 1 に照射光が照射されるように照射光学系 1 0 の光学ヘッドが配置される ( ステップ S 4 1。図 2 5 ( a ) 参照 )。そして、照射光であるキャリブレーション処理用光が光検出素子 7 2 1 において検出される ( ステップ S 4 2。図 2 5 ( a ) 参照 )。当該照射光は、散乱光と同じ位相を持つ光である。そして、キャンセル回路 6 0 において、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理が実施される ( ステップ S 4 3 )。キャリブレーション処理の詳細については、図 1 0 ~ 図 1 3 等を参照して上述したとおりであるので、説明を省略する。

40

## 【 0 1 0 0 】

50

つづいて、試料500の測定領域上を照射光学系10の光学ヘッドがスキャンするように動作して試料500の測定対象部504に励起光（照射光）が照射されることにより（ステップS44）、励起光が照射された試料500から生じる蛍光及び励起光が照射された試料500からの励起光の散乱光を含む測定対象光が光検出素子21において検出される（ステップS45）。そして、キャンセル回路60において、上述した測定対象光に応じた測定信号から、ステップS43のキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分が除去される（ステップS46）。具体的には、上述したように、キャンセル回路60は、測定信号とキャリブレーション処理において位相が調整されたスイッチ信号とを入力として、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去する。

【0101】

10

次に、第2の態様に係る作用効果について説明する。

【0102】

第2の態様に係る光学測定装置701（図23参照）は、照射光（励起光）を照射する照射光学系10と、照射光（励起光）に起因する検出光を検出する検出光学系20及び検出光学系720を有する光検出部と、検出光に応じた検出信号を処理するキャンセル回路60と、を備えている。そして、光学測定装置701では、第1処理において、照射光学系10が、検出光学系720の光検出素子721に照射光を照射し、光検出素子721が、照射光であるキャリブレーション処理用光を検出光として検出し（図25（a）参照）、キャンセル回路60が、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を検出信号として、該キャリブレーション信号に基づき、後述する第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施する。また、光学測定装置701では、第2処理において、照射光学系10が、試料500に励起光（照射光）を照射し、検出光学系20が、励起光が照射された試料500から生じる蛍光、及び、励起光が照射された試料500からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し、キャンセル回路60が、測定対象光に応じた測定信号を検出信号として、測定信号から、第1処理におけるキャリブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去する。

20

【0103】

このように、光学測定装置701では、キャリブレーション処理に係る第1処理において、検出光学系720の光検出素子721に対して直接照射光が照射されて、該照射光であるキャリブレーション処理用光が検出されている。照射光は、散乱光と同じ位相を持つ光である。このため、検出光学系720が照射光をキャリブレーション処理用光として検出することによって、蛍光を含まず且つ散乱光と同じ位相の光をキャリブレーション処理用光として適切に検出することが可能になる。このことで、第2処理において、キャリブレーション処理の実施結果に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。また、試料500に照射光を照射せずにキャリブレーション処理用光が検出されるため、例えば試料500に照射光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する場合に問題となる、試料500の特性に応じたキャリブレーション処理の結果のばらつきが生じない。より具体的には、実サンプルは例えば製造ロットの違いによる特性のばらつきがある場合があり、例えば蛍光物質の移動速度等といった違いが生じたりする場合がある。その場合、実サンプルごとに、キャリブレーション処理時において照射光が照射される領域エリアの蛍光物質質量（つまり蛍光発光量）が互いに異なってしまう可能性がある。このことにより、キャリブレーション処理の結果が安定せず、例えば光学測定の結果の判定に十分な信頼性が得られないおそれがあるが、試料500に照射光を照射せずにキャリブレーション処理用光が検出されるため、蛍光測定をより高精度に行うことができる。また、実サンプルごとの特性の違いに応じて装置が出力する結果が異なる場合には、例えば免疫クロマト法を用いた測定において陽性・陰性判定をするための閾値の設定が難しくなるが、試料500に照射光を照射せずにキャリブレーション処理用光が検出される場合にはこのような問題も抑制することができる。また、例えば互いに形状の異なる複数の試料

30

40

50



500（例えば各種抗原毎に個別に対応する複数のイムノクロマト試験片試薬キット）を1台の光学測定装置1で計測する場合においても、それぞれの試料500毎に適切なキャリブレーション領域を設定する必要がなく、キャリブレーション処理については、試料500に照射光を照射せずにキャリブレーション処理用光を検出することができるため、ハード面での制御やソフト面での制御を単純化することができる。また、照射光が直接検出されてキャリブレーション処理用光とされるため、キャリブレーション処理のための光量を十分に担保することができる。このように、本態様に係る光学測定装置701によれば、キャリブレーション処理をより適切に行うことができ、照射光自体に起因するノイズ成分をより適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。

10

#### 【0104】

なお、上述した説明では、光学測定装置701が、第1の検出光学系である検出光学系720と第2の検出光学系である検出光学系20とを有しているとして説明したが、例えば、図25（b）に示されるように、光学測定装置が、第1の検出光学系及び第2の検出光学系として機能する1つの検出光学系820を備えていてもよい。検出光学系820は、光検出素子821を有している。この場合、照射光学系は、例えば、検出光学系820が第1の検出光学系（すなわち、照射光をキャリブレーション処理用光として検出する検出光学系）として機能する場合において検出光学系820に照射光を照射する照射光学系910と、検出光学系820が第2の検出光学系（すなわち、試料500からの蛍光及び散乱光を含む測定対象光を検出する検出光学系）として機能する場合において試料500

20

#### 【0105】

##### [第3の態様]

図27は、第3の態様の光学測定装置801の概略構成図である。第3の態様の光学測定装置801は、上述した光学測定装置1（図1参照）と概ね同様の構成であるが、図27に示されるように、遅延・増幅回路802を備えている点において光学測定装置1と異なっている。遅延・増幅回路802は、キャンセル回路60と共に信号処理部として機能する構成である。ここで、上述したように、光源駆動回路30は、タイミング生成器70から入力された基準となる周波数信号に基づいて光源11の変調周波数を設定している。遅延・増幅回路802は、タイミング生成器70から入力される周波数信号に基づいて、光源駆動回路30から光源11に設定される変調周波数の信号（変調信号）の位相を変化させた疑似信号（キャリブレーション信号）を生成する。

30

#### 【0106】

具体的には、遅延・増幅回路802は、照射光学系10の光源11から照射された照射光の散乱光が検出光として検出光学系20に検出されるまでに相当する遅延に基づいて、上述した変調信号の位相を変化させた疑似信号（キャリブレーション信号）を生成する。このように、疑似信号は、キャリブレーション処理において、検出光学系20に検出される散乱光（照射光）を模擬した信号である。更に、遅延・増幅回路802は、照射光学系10の光源11から照射された照射光の散乱光が検出光として検出光学系20に検出される場合の振幅に基づいて疑似信号（キャリブレーション信号）の振幅を設定する。このように、遅延・増幅回路802は、光源11に設定される変調信号の位相及び振幅を加工した疑似信号を生成することにより、キャリブレーション処理用光を検出することなく（キャリブレーション処理のために光の照射及び検出を行うことなく）、キャリブレーション信号を得る。遅延・増幅回路802は、詳細には、位相を変化させるための遅延回路及び振幅を変化させるための増幅回路を有している。図28に示されるように、キャリブレーション処理のための光の照射等を行わないため、キャリブレーション処理を行う際の照射光学系10の光学ヘッドの位置は特に限定されない。なお、キャリブレーション処理後の処理（第2処理）については、第1の態様と同様であるので説明を省略する。

40

50

## 【0107】

次に、図29を参照して、第3の態様の蛍光測定処理を説明する。図29は、第3の態様の蛍光測定処理を示すフローチャートである。図29に示されるように、第3の態様の蛍光測定処理では、最初に、遅延・増幅回路802において、照射光学系10の光源11から照射された照射光の散乱光が検出光として検出光学系20に検出されるまでに相当する遅延分だけ変調信号の位相を変化させた疑似信号（キャリアブレーション信号）が生成される（ステップS51）。つづいて、キャンセル回路60において、疑似信号（キャリアブレーション信号）に基づき、検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリアブレーション処理が実施される（ステップS52）。キャリアブレーション処理の詳細については、図10～図13等を参照して上述したとおりであるので、説明を省略する。

10

## 【0108】

つづいて、試料500の測定領域上を照射光学系10の光学ヘッドがスキャンするように動作して試料500の測定対象部504に励起光（照射光）が照射されることにより（ステップS53）、励起光が照射された試料500から生じる蛍光及び励起光が照射された試料500からの励起光の散乱光を含む測定対象光が光検出素子21において検出される（ステップS54）。そして、キャンセル回路60において、ステップS52のキャリアブレーション処理の実施結果が考慮されて、上述した測定対象光に応じた測定信号から散乱光に応じた信号成分が除去される（ステップS55）。具体的には、上述したように、キャンセル回路60は、測定信号とキャリアブレーション処理において位相が調整されたスイッチ信号とを入力として、測定信号から散乱光に応じた信号成分を除去する。

20

## 【0109】

次に、第3の態様に係る作用効果について説明する。

## 【0110】

第3の態様に係る光学測定装置801（図27参照）は、変調信号に応じた照射光（励起光）を照射する照射光学系10と、照射光（励起光）に起因する検出光を検出する検出光学系20と、信号処理部として機能する遅延・増幅回路802及びキャンセル回路60と、を備えている。そして、光学測定装置801では、第1処理において、遅延・増幅回路802が、照射光学系10から照射された照射光の散乱光が検出光として検出光学系20に検出されるまでに相当する遅延を考慮して上記変調信号の位相を変化させた疑似信号（キャリアブレーション信号）を生成し、キャンセル回路60が、疑似信号に基づき、第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリアブレーション処理を実施する。また、光学測定装置801では、第2処理において、照射光学系10が、試料500に励起光（照射光）を照射し、検出光学系20が、励起光が照射された試料500から生じる蛍光、及び、励起光が照射された試料500からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し、キャンセル回路60が、測定対象光に応じた測定信号を検出信号として、測定信号から、第1処理における前記キャリアブレーション処理における散乱光に応じた信号成分を除去する。

30

## 【0111】

このように、光学測定装置801では、キャリアブレーション処理に係る第1処理において、照射光学系10に入力される変調信号の位相を照射光学系10の遅延に応じて変化した疑似信号（キャリアブレーション信号）が生成される。このように、照射光に係る変調信号について照射光学系10の遅延に応じたキャリアブレーション信号が生成されることにより、キャリアブレーション処理用光を検出することなく、実際に散乱光をキャリアブレーション処理用光として検出した場合と同様のキャリアブレーション信号（散乱光と同様の位相を持つキャリアブレーション信号）を得ることができる。すなわち、このような構成によれば、蛍光の信号成分を含まない散乱光の信号成分のみのキャリアブレーション信号を得ることができる。このことで、第2処理において、キャリアブレーション処理の実施結果に基づき、測定信号から散乱光に応じた信号成分を適切に除去することで、照射光自体に起因するノイズ成分を除去し、蛍光測定を高精度に行うことができる。また、試料500に照射光を照射せずにキャリアブレーション処理用光が検出されるため、例えば試料500に照射

40

50

光を照射してキャリブレーション処理用光を検出する場合に問題となる、試料 500 の特性に応じたキャリブレーション処理の結果のばらつきが抑制される。より具体的には、実サンプルは例えば製造ロットの違いによる特性のばらつきがある場合があり、例えば蛍光物質の移動速度等といった違いが生じたりする場合がある。その場合、実サンプルごとに、キャリブレーション処理時において照射光が照射される領域エリアの蛍光物質質量（つまり蛍光発光量）が互いに異なってしまう可能性がある。このことにより、キャリブレーション処理の結果が安定せず、例えば光学測定の結果の判定に十分な信頼性が得られないおそれがあるが、照射光に係る変調信号について照射光学系 10 遅延に応じたキャリブレーション信号が生成されることにより、蛍光測定をより高精度に行うことができる。また、実サンプルごとの特性の違いに応じて装置が出力する結果が異なる場合には、例えばイムノクロマト法を用いた測定において陽性・陰性判定をするための閾値の設定が難しくなるが、照射光に係る変調信号について照射光学系 10 遅延に応じたキャリブレーション信号が生成される場合にはこのような問題も抑制することができる。また、例えば互いに形状の異なる複数の試料 500（例えば各種抗原毎に個別に対応する複数のイムノクロマト試験片試薬キット）を 1 台の光学測定装置 1 で計測する場合においても、それぞれの試料 500 毎に適切なキャリブレーション領域を設定する必要がなく、照射光に係る変調信号について照射光学系 10 遅延に応じたキャリブレーション信号が生成されるため、ハード面での制御やソフト面での制御を単純化することができる。また、実際にキャリブレーション処理用光を検出することなく電氣的にキャリブレーション信号を生成するため、キャリブレーション処理用の検出光学系等が不要になり、シンプル且つ安価な装置構成とすることができる。このように、本態様に係る光学測定装置 801 によれば、キャリブレーション処理をより適切に行うことができ、照射光自体に起因するノイズ成分をより適切に除去し、蛍光測定をより高精度に行うことができる。

10

20

#### 【0112】

さらに、上述した第 1 処理では、遅延・増幅回路 802 が、照射光学系 10 から照射された照射光の散乱光が検出光として検出光学系 20 に検出される場合の振幅を考慮してキャリブレーション信号の振幅を設定してもよい。これにより、散乱光をキャリブレーション処理用光として実際に検出する場合とより近似させたキャリブレーション信号を得ることができる。

#### 【0113】

上述したようなキャリブレーション処理については、実際の計測における高い再現性を担保する上で、毎回同じ照射光量でキャリブレーション処理を行うことが好ましい。そのため、第 1 の態様等で説明した部材（リファレンス部材）を用いる場合には、該部材を機械的に安定して固定できることが好ましい。また、該部材は経時変化しにくいものが好ましい。また、第 2 の態様で説明したような、キャリブレーション処理に関して光検出素子に照射光を照射する場合においては、光源の光量を一定に保つために回路的にフィードバックすることが好ましい。なお、第 3 の態様のように疑似的に作り出した信号でキャリブレーション処理を行う態様においては、毎回同じ光量でキャリブレーションできると考えられる。

30

#### 【符号の説明】

40

#### 【0114】

1, 701, 801 ... 光学測定装置、10 ... 照射光学系、20 ... 検出光学系（光検出部、第 2 の検出光学系）、60 ... キャンセル回路（信号処理部）、600 ... リファレンス部材、600A ... ミラー、600B ... 反射拡散体、610 ... すりガラス、611 ... ミラー、720 ... 検出光学系（光検出部、第 1 の検出光学系）、802 ... 遅延・増幅回路（信号処理部）、820 ... 検出光学系（第 1 の検出光学系及び第 2 の検出光学系）、910 ... 照射光学系。

#### 【要約】（修正有）

【課題】照射光自体に起因するノイズ成分を除去する。

【解決手段】光学測定装置では、第 1 処理において、リファレンス部材 600 に励起光を

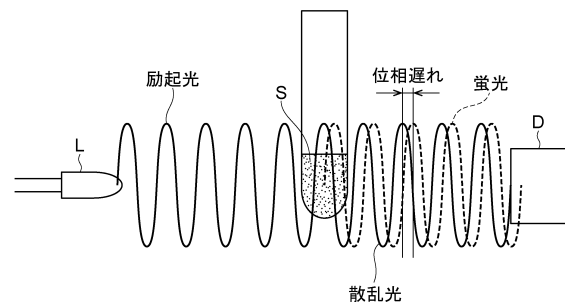
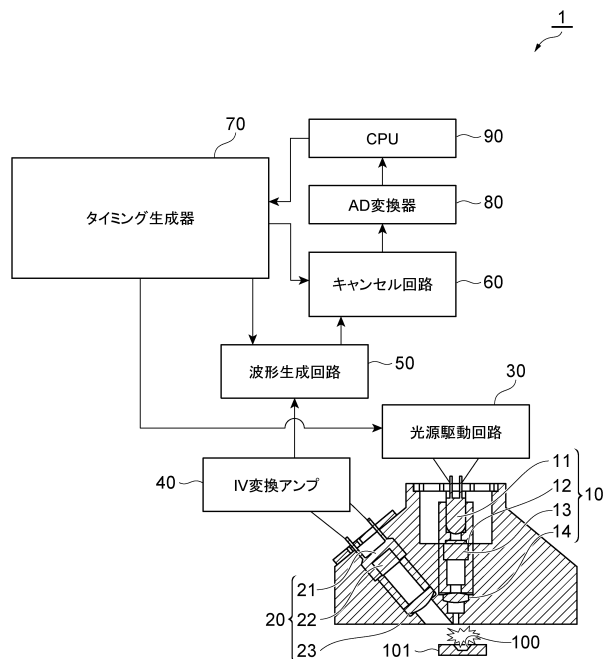
50

照射し、リファレンス部材からの励起光の散乱光を含むキャリブレーション処理用光を検出光として検出し、キャリブレーション処理用光に応じたキャリブレーション信号を検出信号として、第2処理における検出信号から散乱光に応じた信号成分を除去するためのキャリブレーション処理を実施する。また、光学測定装置では、第2処理において、試料500に励起光を照射し、試料から生じる蛍光、及び、励起光が照射された試料からの散乱光を含む測定対象光を検出光として検出し、測定信号から、第1処理におけるキャリブレーション処理の実施結果における散乱光に応じた信号成分を除去する。

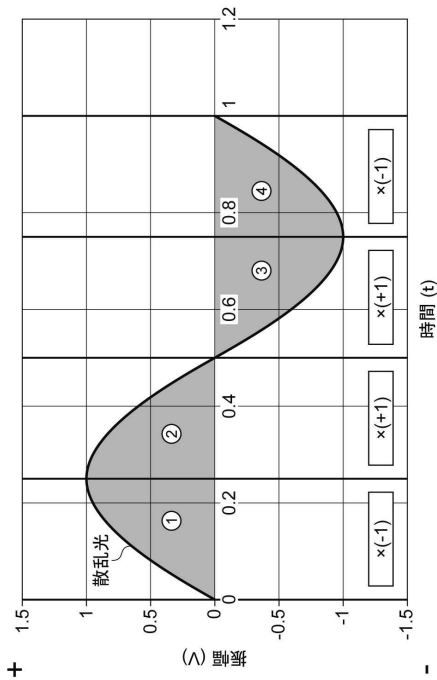
【選択図】図 1 5

【圖 1】

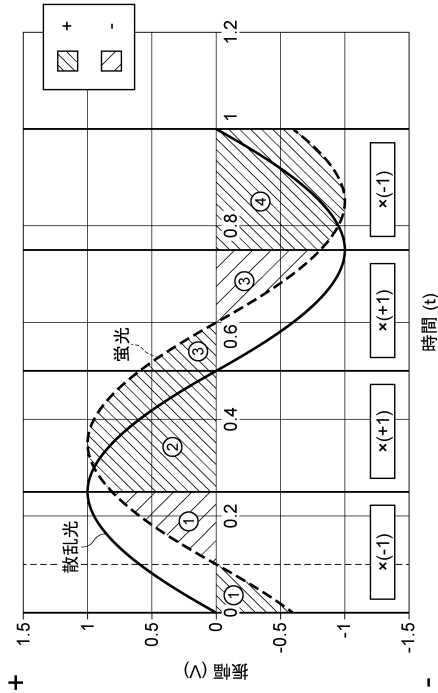
【圖 2】



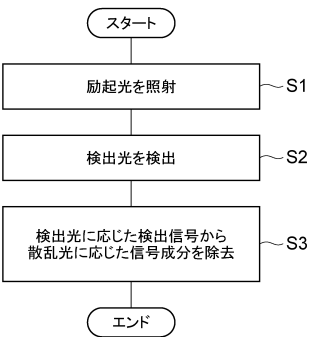
【図 3】



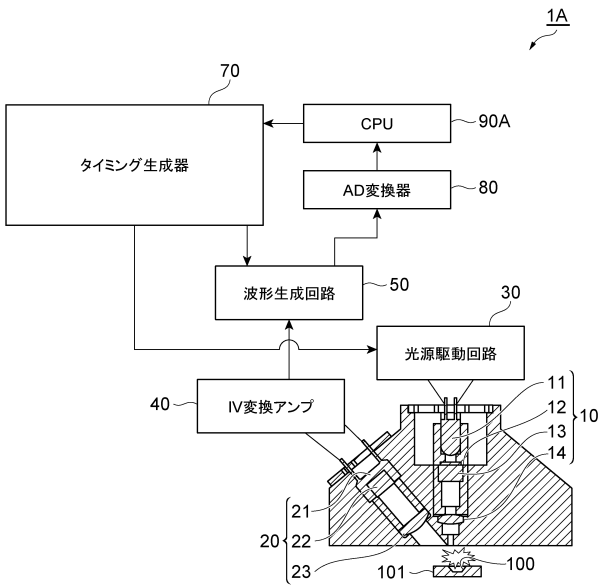
【図 4】



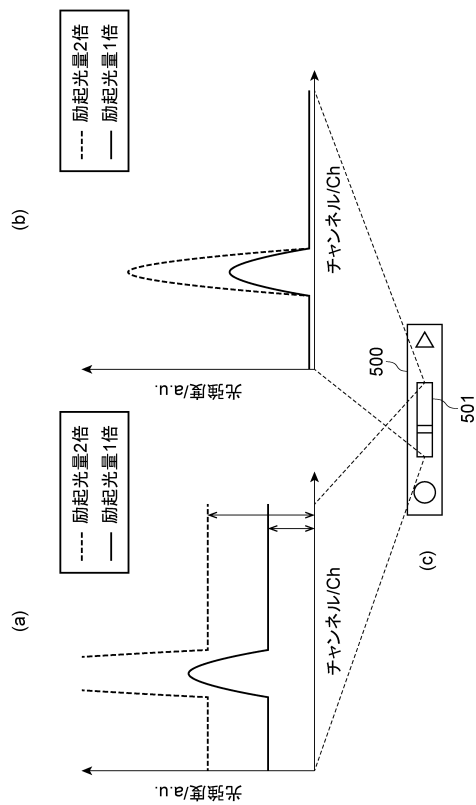
【図 5】



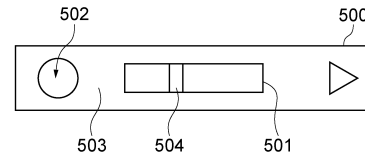
【図 6】



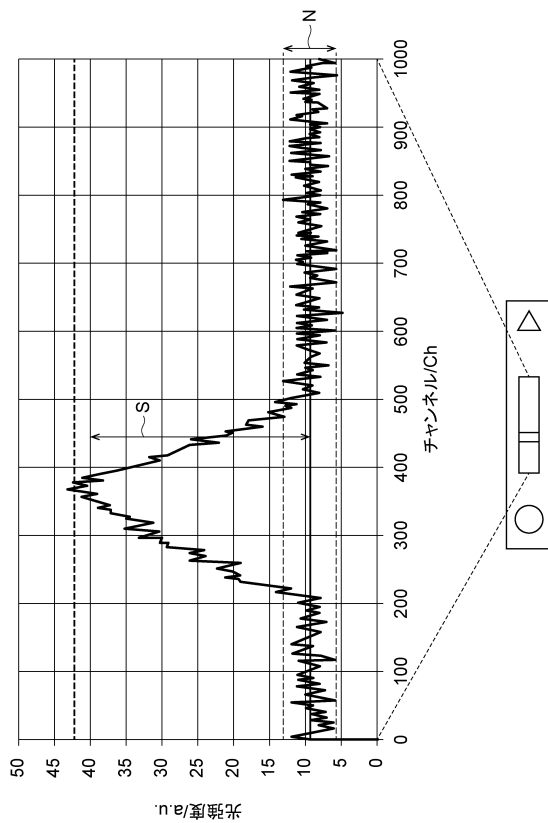
【図 7】



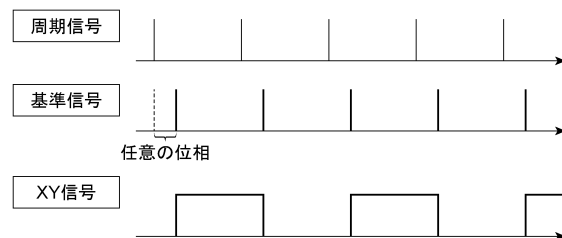
【図 8】



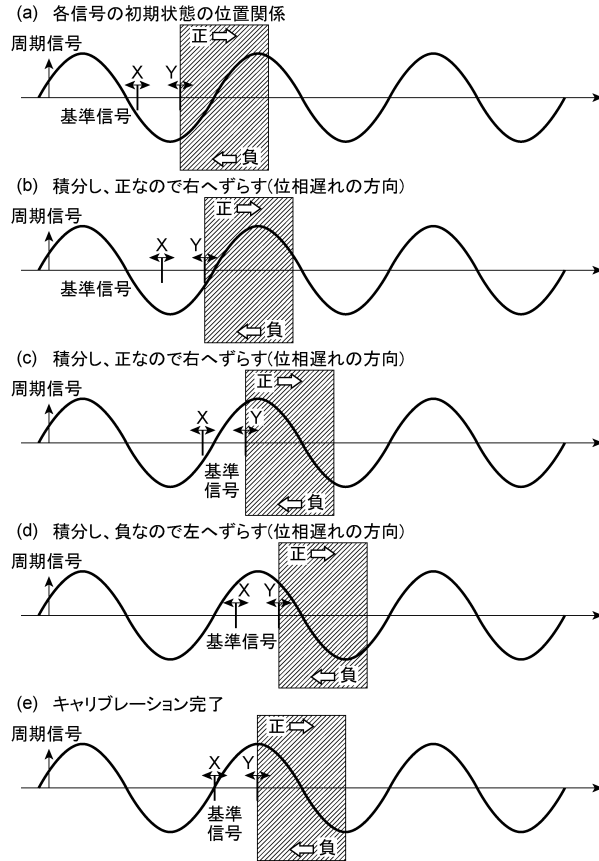
【図 9】



【図 10】



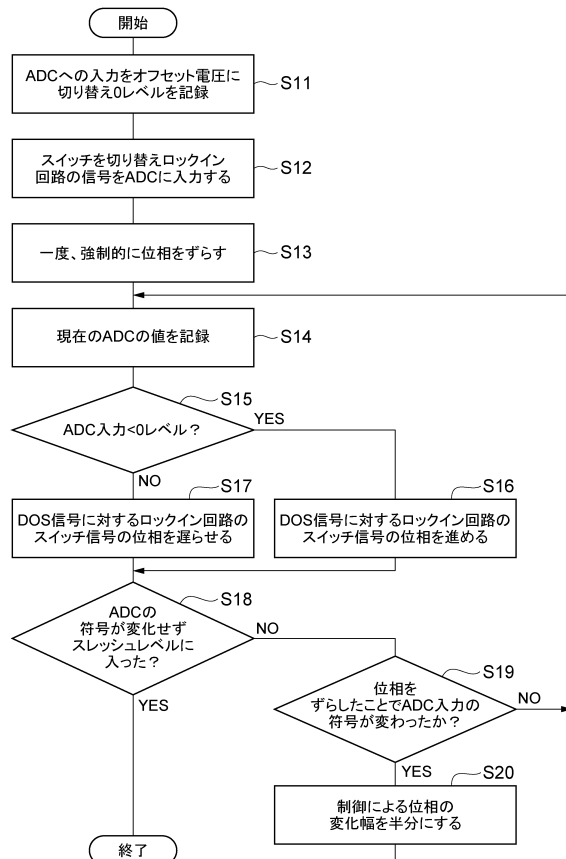
【図 1 1】



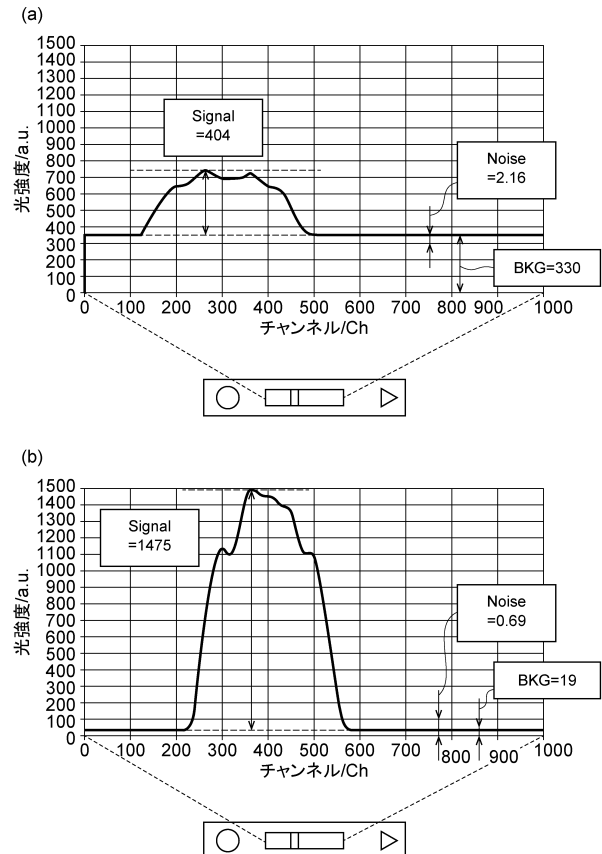
【図 1 2】

変調周波数[Hz]	100	500	1000
蛍光(Peak to Peak) [mV]	640	270	140
励起光(Peak to Peak) [mV]	33	27	22
蛍光/励起光	19	10	6

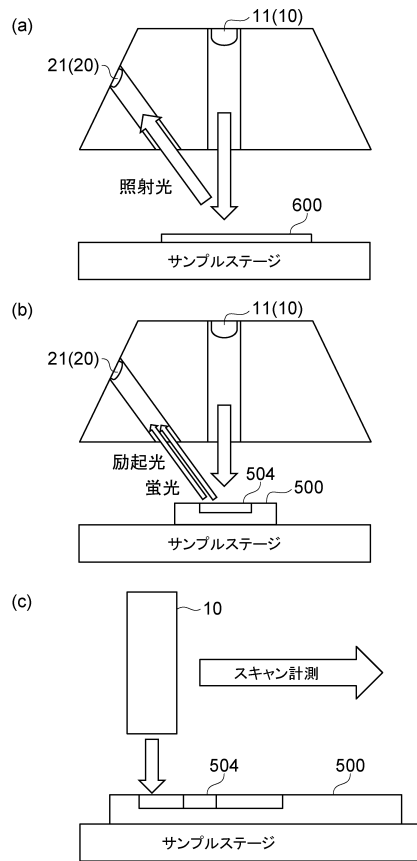
【図 1 3】



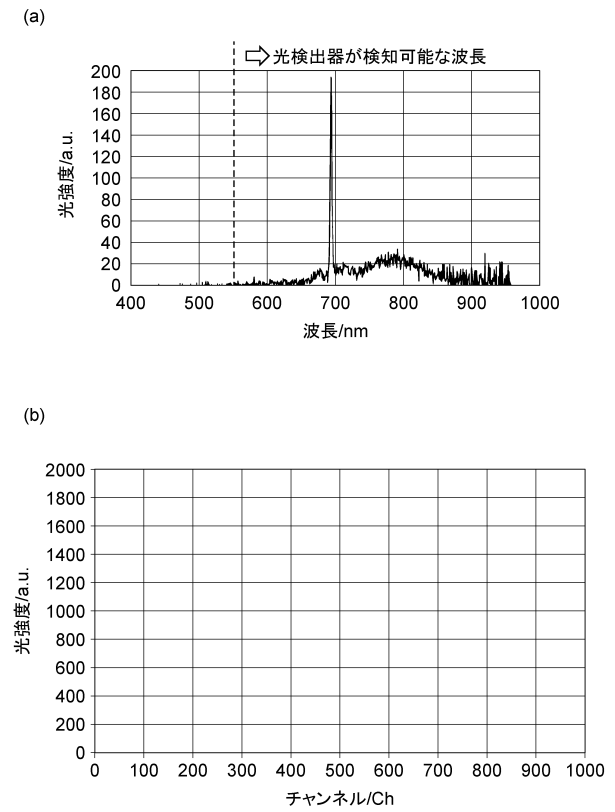
【図 1 4】



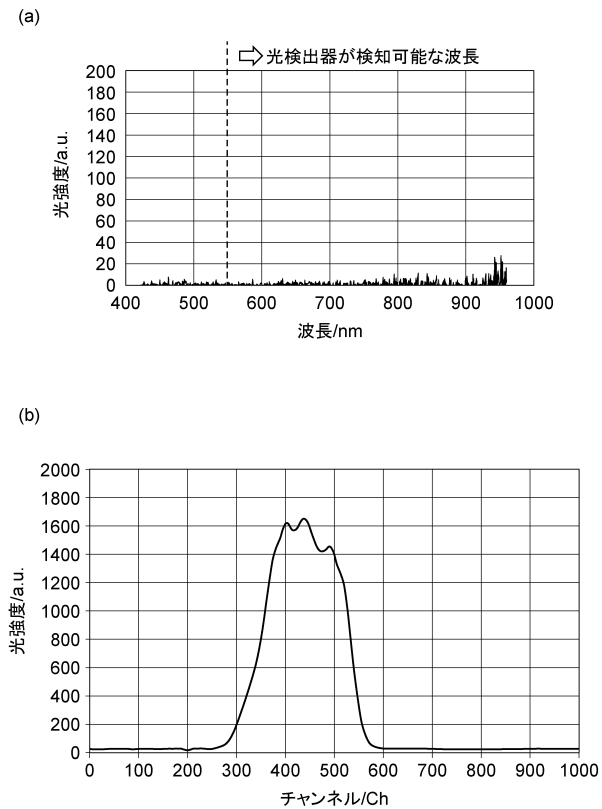
【図 15】



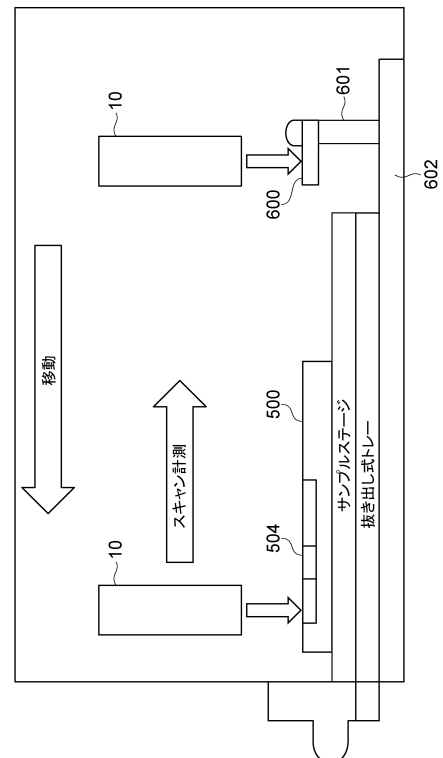
【図 16】



【図 17】

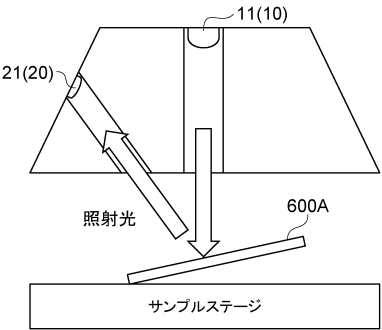


【図 18】

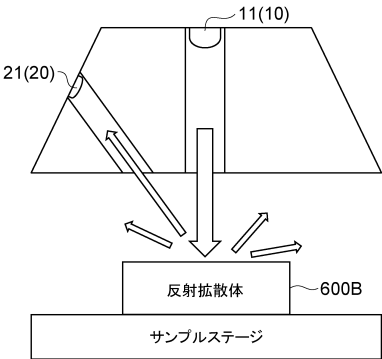




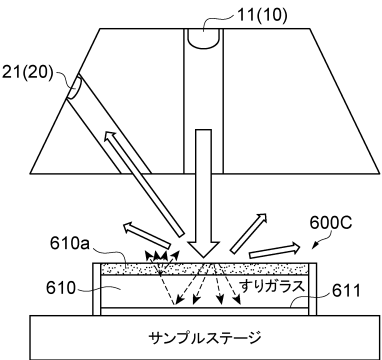
【図 19】



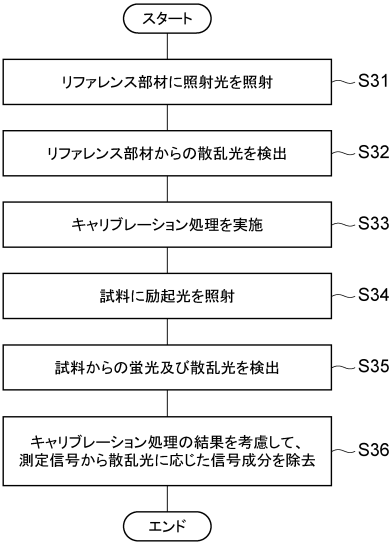
【図 20】



【図 21】

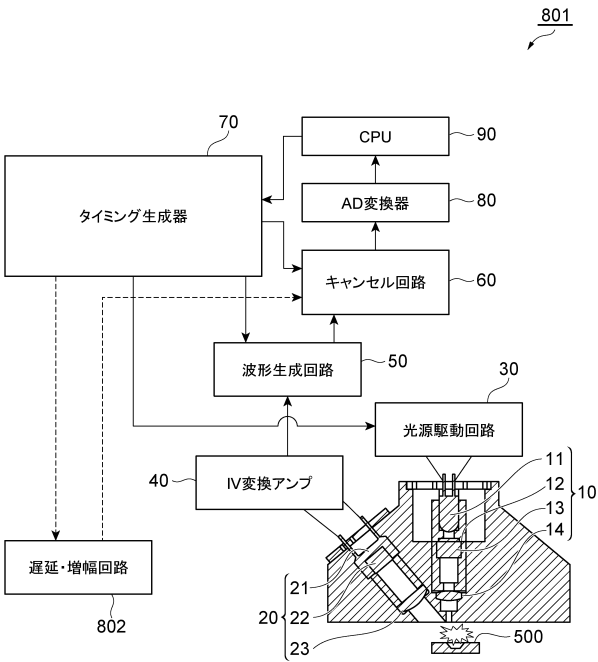


【図 22】

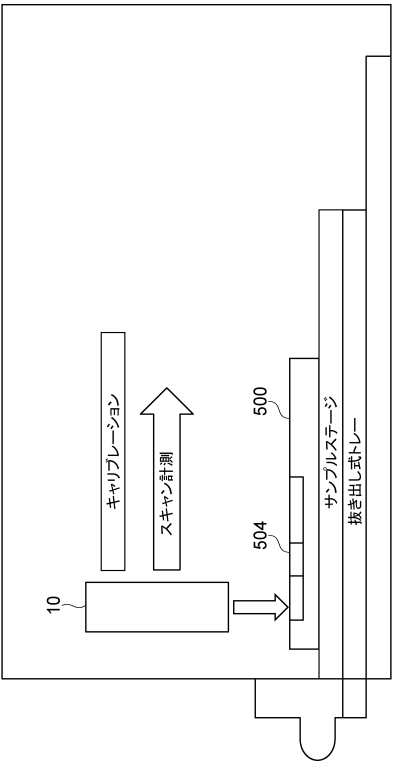




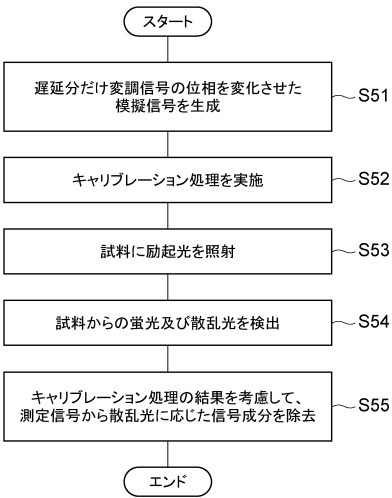
【図 2 7】



【図 2 8】



【図 2 9】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 岩田 直樹  
静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内
- (72)発明者 松村 朋和  
静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内
- (72)発明者 竹下 照雄  
静岡県浜松市東区市野町 1 1 2 6 番地の 1 浜松ホトニクス株式会社内

審査官 吉田 将志

- (56)参考文献 特表 2 0 0 1 - 5 2 3 8 3 0 ( J P , A )  
特開平 1 1 - 5 1 8 5 6 ( J P , A )  
特開平 4 - 1 0 6 4 7 0 ( J P , A )  
特開 2 0 1 8 - 1 8 9 9 4 6 ( J P , A )  
米国特許第 5 2 7 0 5 4 8 ( U S , A )  
米国特許第 5 2 5 7 2 0 2 ( U S , A )

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)  
G 0 1 N 2 1 / 6 4  
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )