

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号  
特許第6856074号  
(P6856074)

(45) 発行日 令和3年4月7日 (2021. 4. 7)

(24) 登録日 令和3年3月22日 (2021. 3. 22)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/49 (2006. 01)

GO 1 N 21/64 (2006. 01)

GO 1 N 33/49 K

GO 1 N 33/49 B

GO 1 N 21/64 G

請求項の数 21 (全 33 頁)

(21) 出願番号	特願2018-534326 (P2018-534326)	(73) 特許権者	000001270
(86) (22) 出願日	平成29年8月1日 (2017. 8. 1)		コニカミノルタ株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2017/027868		東京都千代田区丸の内二丁目7番2号
(87) 国際公開番号	W02018/034143	(74) 代理人	110002952
(87) 国際公開日	平成30年2月22日 (2018. 2. 22)		特許業務法人鷺田国際特許事務所
審査請求日	令和2年3月18日 (2020. 3. 18)	(74) 代理人	100155620
(31) 優先権主張番号	特願2016-160753 (P2016-160753)		弁理士 木曾 孝
(32) 優先日	平成28年8月18日 (2016. 8. 18)	(72) 発明者	長井 史生
(33) 優先権主張国・地域又は機関	日本国 (JP)		東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 コニカミノルタ株式会社内
		(72) 発明者	野田 哲也
			東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 コニカミノルタ株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 測定方法、測定装置および測定システム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

血液を含む検体中の被測定物質の量を測定するための測定方法であって、  
液体を収容するための空洞である流路と、前記流路内を通過した光を、前記流路内を再度通過するように鏡面反射させるための反射部と、を有する測定チップの前記流路内に、前記被測定物質を含む前記検体を導入し、前記検体中の前記被測定物質の量を示す測定値を取得する工程と、  
前記検体が前記流路内に存在する状態で、赤血球が吸収する波長の光を含む第1の光が前記流路内の前記検体を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記検体を再度透過することで得られる第2の光を検出する工程と、  
前記第2の光の検出結果、並びに、前記第2の光となる光の前記流路内の光路長、前記流路の高さ、および前記第1の光の波長の少なくとも1つに基づいて、前記検体のヘマトクリット値を決定する工程と、  
前記ヘマトクリット値に基づいて前記測定値を補正する工程と、  
を含む、測定方法。

【請求項 2】

前記流路内が空洞である第1の状態で、前記第1の光が前記流路内を通過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内を再度通過することで得られる第3の光と、前記第1の光が前記流路の、前記反射部に対向する面で反射することで得られる第4の光とをアレイセンサーにより検出する工程と、

前記第 1 の光に対して透明な第 1 の液で、前記流路内が満たされている第 2 の状態で、前記第 1 の光が前記流路内の前記第 1 の液を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記第 1 の液を再度透過することで得られる第 5 の光をアレイセンサーにより検出する工程と、

前記第 3 の光、前記第 4 の光および前記第 5 の光の検出結果に基づいて、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長または前記流路の高さを決定する工程と、

をさらに含む、請求項 1 に記載の測定方法。

【請求項 3】

前記第 1 の光の少なくとも一部の波長の光を吸収する色素を含む第 2 の液で、前記流路内が満たされている状態で、前記第 1 の光が前記流路内の前記第 2 の液を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記第 2 の液を再度透過することで得られる第 6 の光を検出する工程と、

前記第 6 の光の検出結果に基づいて、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長または前記流路の高さを決定する工程と、

をさらに含む、請求項 1 に記載の測定方法。

【請求項 4】

前記ヘマトクリット値を決定する工程では、血液が溶血した状態の前記検体を透過した前記第 2 の光の検出結果を用いる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の測定方法。

【請求項 5】

前記第 1 の光に対して透明な参照液が前記流路内に存在する状態で、前記第 1 の光が前記流路内の前記参照液を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記参照液を透過することで得られる第 7 の光を検出する工程をさらに含み、

前記ヘマトクリット値を決定する工程では、前記第 2 の光の検出結果、前記第 7 の光の検出結果、並びに、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長、前記流路の高さ、および前記第 1 の光の波長の少なくとも 1 つに基づいて、前記ヘマトクリット値を決定する、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の測定方法。

【請求項 6】

前記第 2 の光を検出する工程では、前記第 1 の光の光軸と前記第 2 の光の光軸とを含む平面が前記流路の長手方向に沿うように、前記第 1 の光を前記反射部に照射する、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の測定方法。

【請求項 7】

前記測定チップは、プリズムと、前記プリズム上に配置されている金属膜と、前記金属膜上に配置されている前記流路と、前記流路を挟んで前記プリズムと対向するように配置されている前記反射部と、を有し、

前記測定値を取得する工程では、前記金属膜上に、前記検体中に含まれていた前記被測定物質が固定化され、かつ前記検体が存在しない状態で、前記プリズムを介して前記金属膜に、表面プラズモン共鳴が生じる入射角で第 8 の光を照射したときに生じる、前記被測定物質の量を示すシグナルを検出して、前記測定値を取得し、

前記第 2 の光を検出する工程では、前記検体が前記流路内に存在する状態で、前記プリズム側から前記反射部に前記第 1 の光を照射する、

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の測定方法。

【請求項 8】

前記反射部は、金属膜である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の測定方法。

【請求項 9】

前記測定チップは、プリズムと、前記プリズム上に配置されている金属膜である前記反射部と、前記反射部上に配置されている前記流路と、を有し、

前記測定値を取得する工程では、前記反射部上に、前記検体中に含まれていた前記被測定物質が固定化され、かつ前記検体が存在しない状態で、前記プリズムを介して前記反射部に、表面プラズモン共鳴が生じる入射角で第 8 の光を照射したときに生じる、前記被測定物質の量を示すシグナルを検出して、前記測定値を取得し、

10

20

30

40

50

前記第 2 の光を検出する工程では、前記検体が前記流路内に存在する状態で、前記流路側から前記反射部に前記第 1 の光を照射する、

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の測定方法。

【請求項 1 0】

血液を含む検体中の被測定物質の量を測定するための測定装置であって、

液体を収容するための空洞である流路と、前記流路内を通過した光を、前記流路内を再度通過するように鏡面反射させるための反射部と、を有する測定チップを保持するためのチップホルダーと、

前記チップホルダーに保持された前記測定チップの前記流路内に、前記検体中の前記被測定物質が存在する状態で、前記検体中の前記被測定物質の量を示す測定値を取得するための測定値取得部と、

赤血球が吸収する波長の光を含む第 1 の光を出射するための光出射部と、

前記検体が前記流路内に存在する状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射したときに、前記第 1 の光が前記流路内の前記検体を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記検体を再度透過することで得られる第 2 の光を検出するための光検出部と、

前記光検出部による前記第 2 の光の検出結果、並びに、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長、前記流路の高さ、および前記第 1 の光の波長の少なくとも 1 つに基づいて前記検体のヘマトクリット値を決定するとともに、前記ヘマトクリット値に基づいて前記測定値を補正する処理部と、

を有する、測定装置。

【請求項 1 1】

前記光検出部は、前記第 2 の光を受光するためのアレイセンサーを有し、

前記光検出部は、

前記流路内が空洞である状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射したときに、前記第 1 の光が前記流路内を通過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内を再度通過することで得られる第 3 の光と、前記第 1 の光が、前記流路の、前記反射部に対向する面で反射することで得られる第 4 の光とを検出し、かつ

前記第 1 の光に対して透明な第 1 の液で前記流路内が満たされている状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射したときに、前記第 1 の光が前記流路内の前記第 1 の液を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記第 1 の液を再度透過することで得られる第 5 の光を検出し、

前記処理部は、前記アレイセンサーによる前記第 3 の光、前記第 4 の光および前記第 5 の光の検出結果に基づいて、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長または前記流路の高さを決定する、

請求項 1 0 に記載の測定装置。

【請求項 1 2】

前記光検出部は、前記第 1 の光の少なくとも一部の波長の光を吸収する色素を含む第 2 の液で、前記流路内が満たされている状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射したときに、前記第 1 の光が前記流路内の前記第 2 の液を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記第 2 の液を再度透過することで得られる第 6 の光を検出し、

前記処理部は、前記光検出部による前記第 6 の光の検出結果に基づいて、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長または前記流路の高さを決定する、

請求項 1 0 に記載の測定装置。

【請求項 1 3】

前記処理部は、前記流路の高さに関する情報をあらかじめ記憶している、請求項 1 0 に記載の測定装置。

【請求項 1 4】

前記処理部は、血液が溶血した状態の前記検体を透過した前記第 2 の光の検出結果を用

10

20

30

40

50

いる、請求項 1 0 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の測定装置。

【請求項 1 5】

前記光検出部は、前記第 1 の光に対して透明な参照液が前記流路内に存在する状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射したときに、前記第 1 の光が前記流路内の前記参照液を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記参照液を再度透過することで得られる第 7 の光を検出し、

前記処理部は、前記第 2 の光の検出結果、前記第 7 の光の検出結果、並びに、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長、前記流路の高さ、および前記第 1 の光の波長の少なくとも 1 つに基づいて、前記ヘマトクリット値を決定する、

請求項 1 0 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の測定装置。

10

【請求項 1 6】

前記光出射部および前記光検出部は、前記第 1 の光の光軸と前記第 2 の光の光軸とを含む平面が前記流路の長手方向に沿うように配置されている、請求項 1 0 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の測定装置。

【請求項 1 7】

前記測定チップは、プリズムと、前記プリズム上に配置されている金属膜と、前記金属膜上に配置されている前記流路と、前記流路を挟んで前記プリズムと対向するように配置されている前記反射部とを有し、

前記測定値取得部は、

第 8 の光を出射するための第 2 の光出射部と、

20

前記金属膜上に、前記検体に含まれていた前記被測定物質が固定化され、かつ前記検体が存在しない状態で、前記第 2 の光出射部が前記プリズムを介して前記金属膜に向けて、表面プラズモン共鳴が生じる入射角で前記第 8 の光を出射したときに生じる、前記被測定物質の量を示すシグナルを検出するためのシグナル検出部と、

を有し、

前記光出射部は、前記プリズム側から前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射し、

前記処理部は、前記シグナル検出部の検出結果に基づいて前記測定値を取得する、

請求項 1 0 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の測定装置。

【請求項 1 8】

前記反射部は、金属膜である、請求項 1 0 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の測定装置。

30

【請求項 1 9】

前記測定チップは、プリズムと、前記プリズム上に配置されている金属膜である前記反射部と、前記反射部上に配置されている前記流路と、を有し、

前記測定値取得部は、

第 8 の光を出射するための第 2 の光出射部と、

前記金属膜上に、前記検体に含まれていた前記被測定物質が固定化され、かつ前記検体が存在しない状態で、前記第 2 の光出射部が前記プリズムを介して前記金属膜に向けて、表面プラズモン共鳴が生じる入射角で前記第 8 の光を出射したときに生じる、前記被測定物質の量を示すシグナルを検出するためのシグナル検出部と、

を有し、

40

前記光出射部は、前記流路側から前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射し、

前記処理部は、前記シグナル検出部の検出結果に基づいて前記測定値を取得する、

請求項 1 0 ~ 1 6 のいずれか一項に記載の測定装置。

【請求項 2 0】

前記シグナル検出部は、前記シグナルを集光するための光学レンズと、前記シグナルを受光するための受光素子とを有し、

前記光学レンズは、前記第 1 の光を前記反射部に導くとともに、前記第 2 の光を前記受光素子に導く光学レンズとしても機能し、

前記受光素子は、前記第 2 の光を受光するための受光素子としても機能する、

請求項 1 9 に記載の測定装置。

50

## 【請求項 2 1】

血液を含む検体中の被測定物質の量を測定するための測定システムであって、  
液体を収容するための空洞である流路と、前記流路内を通過した光を、前記流路内を再度通過するように鏡面反射させるための反射部と、を有する測定チップと、  
前記流路内に、前記検体中の前記被測定物質が存在する状態で、前記検体中の前記被測定物質の量を示す測定値を取得するための測定値取得部と、  
赤血球が吸収する波長の光を含む第 1 の光を出射するための光出射部と、  
前記検体が前記流路内に存在する状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第 1 の光を出射したときに、前記第 1 の光が前記流路内の前記検体を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記検体を再度透過することで得られる第 2 の光を検出するための光検出部と、  
前記光検出部による前記第 2 の光の検出結果、並びに、前記第 2 の光となる光の前記流路内の光路長、前記流路の高さ、および前記第 1 の光の波長の少なくとも 1 つに基づいて前記検体のヘマトクリット値を決定するとともに、前記ヘマトクリット値に基づいて前記測定値を補正する処理部と、  
を有する、測定システム。

10

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、血液を含む検体中の被測定物質を測定する測定方法、測定装置および測定システムに関する。

20

## 【背景技術】

## 【0002】

臨床検査において、タンパク質や DNA などの、検体中の微量の被測定物質を高感度かつ定量的に検出することができれば、患者の状態を迅速に把握して治療を行うことが可能となる。たとえば、血液中の抗原（被測定物質）を測定する場合、検体としては、患者から採取された全血、またはその全血から血球成分が分離された血漿または血清が使用され得る。また、患者の状態を把握するためには、血漿または血清に対する被測定物質の量（濃度）を測定する必要がある。しかしながら、全血に対する血漿または血清の割合は患者ごとに異なるため、検体として全血を使用して被測定物質の量を示す測定値を取得した場合には、全血に対する血漿または血清の割合に応じて当該測定値を補正する必要がある。このとき、測定値の補正には、ヘマトクリット値が用いられ得る。従来、ヘマトクリット値および上記測定値に基づいて、被測定物質の量を決定する方法が知られている（例えば、特許文献 1 参照）。

30

## 【0003】

特許文献 1 に記載の測定方法では、検体中の血液と、色素との呈色反応を利用している。まず、ヘモグロビンに対して特異的な吸収波長を有する第 1 の光と、色素に対して特異的な吸収波長を有する第 2 の光とによって検体の吸光度をそれぞれ測定する。ヘマトクリット値は、第 1 の光に対する検体の吸光度と、第 2 の光に対する検体の吸光度とに基づいて決定される。血漿または血清中の被測定物質の量を示す測定値は、決定されたヘマトクリット値と、第 2 の光に対する検体の吸光度とに基づいて決定される。

40

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0004】

【特許文献 1】特開 2009 - 236487 号公報

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

特許文献 1 に記載の測定方法では、検体を試験紙に吸収させた状態で吸光度の測定が行われる。試験紙ごとに微細構造が異なるため、試験紙による光（第 1 の光および第 2 の光

50

）の散乱にばらつきが生じてしまい、吸光度を高精度に測定できないことがある。また、第１の光および第２の光が色素によって吸収されてしまい、吸光度を高精度に測定できないこともある。このため、特許文献１に記載の測定方法には、ヘマトクリット値を高精度に決定できないという問題がある。

【０００６】

ヘマトクリット値をより高精度に決定する観点から、試験紙の厚みを大きくすることで検体中の光路長を長くして、検体による光の吸収量を高めるという方法が考えられる。しかしながら、この方法では、試験紙による散乱および色素による吸収の寄与が大きくなってしまったため、ヘマトクリット値の測定精度を高めることは難しい。

【０００７】

本発明の目的は、ヘマトクリット値を高精度に決定し、血液を含む検体中の被測定物質の量を高精度に測定できる測定方法、測定装置および測定システムを提供することである。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る測定方法は、血液を含む検体中の量を測定するための測定方法であって、液体を収容するための空洞である流路と、前記流路内を通過した光を、前記流路内を再度通過するように鏡面反射させるための反射部と、を有する測定チップの前記流路内に、前記被測定物質を含む前記検体を導入し、前記検体中の前記被測定物質の量を示す測定値を取得する工程と、前記検体が前記流路内に存在する状態で、赤血球が吸収する波長の光を含む第１の光が前記流路内の前記検体を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記検体を再度透過することで得られる第２の光を検出する工程と、前記第２の光の検出結果に基づいて、前記検体のヘマトクリット値を決定する工程と、前記ヘマトクリット値に基づいて前記測定値を補正する工程と、を含む。

【０００９】

上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る測定装置は、血液を含む検体中の被測定物質の量を測定するための測定装置であって、液体を収容するための空洞である流路と、前記流路内を通過した光を、前記流路内を再度通過するように鏡面反射させるための反射部と、を有する測定チップを保持するためのチップホルダーと、前記チップホルダーに保持された前記測定チップの前記流路内に、前記検体中の前記被測定物質が存在する状態で、前記検体中の前記被測定物質の量を示す測定値を取得するための測定値取得部と、赤血球が吸収する波長の光を含む第１の光を出射するための光出射部と、前記検体が前記流路内に存在する状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第１の光を出射したときに、前記第１の光が前記流路内の前記検体を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記検体を再度透過することで得られる第２の光を検出するための光検出部と、前記光検出部による前記第２の光の検出結果に基づいて前記検体のヘマトクリット値を決定するとともに、前記ヘマトクリット値に基づいて前記測定値を補正する処理部と、を有する。

【００１０】

上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る測定システムは、血液を含む検体中の被測定物質の量を測定するための測定システムであって、液体を収容するための空洞である流路と、前記流路内を通過した光を、前記流路内を再度通過するように鏡面反射させるための反射部と、を有する測定チップと、前記流路内に、前記検体中の前記被測定物質が存在する状態で、前記検体中の前記被測定物質の量を示す測定値を取得するための測定値取得部と、赤血球が吸収する波長の光を含む第１の光を出射するための光出射部と、前記検体が前記流路内に存在する状態で、前記光出射部が前記反射部に向けて前記第１の光を出射したときに、前記第１の光が前記流路内の前記検体を透過し、前記反射部で反射し、かつ前記流路内の前記検体を再度透過することで得られる第２の光を検出するための光検出部と、前記光検出部による前記第２の光の検出結果に基づいて前記検体のヘマト

10

20

30

40

50

クリット値を決定するとともに、前記ヘマトクリット値に基づいて前記測定値を補正する処理部と、を有する。

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、ヘマトクリット値を高精度に決定でき、血液を含む検体中の被測定物質の量を高精度に測定することができる。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、実施の形態1～3に係る測定システムの構成の一例を示す模式図である。

10

【図2】図2は、実施の形態1に係る測定システムにおけるヘマトクリット値取得部の構成を示す断面模式図である。

【図3】図3は、実施の形態1に係る測定システムの動作手順の一例を示すフローチャートである。

【図4】図4は、図3に示される光学ブランク値の測定工程内の工程を示すフローチャートである。

【図5】図5は、実施の形態2に係る測定システムの動作手順の一例を示すフローチャートである。

【図6】図6A、Bは、実施の形態2に係る測定システムにおける流路の高さの測定について説明するための図であり、実施の形態2に係る測定システムにおけるヘマトクリット値取得部の構成を示す断面模式図である。

20

【図7】図7は、実施の形態3に係る測定システムの動作手順の一例を示すフローチャートである。

【図8】図8は、変形例1に係る測定システムにおけるヘマトクリット値取得部の構成を示す断面模式図である。

【図9】図9は、変形例2に係る測定システムにおける測定値取得部およびヘマトクリット値取得部の構成を示す模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

以下、本発明の実施の形態について、図面を参照して詳細に説明する。ここでは、本発明に係る測定装置および測定システムの代表例として、表面プラズモン励起増強蛍光分光法（Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy：以下「SPFS」と略記する）を利用した測定装置（SPFS装置）および測定システムについて説明する。

30

【0014】

〔実施の形態1〕

（測定システム）

図1は、実施の形態1に係る測定システム1の構成の一例を示す模式図である。本実施の形態に係る測定システム1は、測定チップ10およびSPFS装置100を有する。測定システム1は、血液を含む検体中の被測定物質の量を測定するためのシステムである。

【0015】

40

図1に示されるように、SPFS装置100は、励起光出射部（特許請求の範囲では、「第2の光出射部」と称している）110、シグナル検出部120、送液部130、搬送部140、光出射部150、光検出部160および制御処理部（処理部）170を有する。実施の形態1では、励起光出射部110およびシグナル検出部120は、ともに検体中の被測定物質の量を示す測定値を取得するための測定値取得部を構成する。光出射部150および光検出部160は、検体のヘマトクリット値を取得するためのヘマトクリット値取得部を構成する。

【0016】

図2は、実施の形態1に係る測定システム1におけるヘマトクリット値取得部の構成を示す断面模式図である。図2は、図1の紙面に対する垂直な面に対して法線方向から見た

50

ときの図である。図 1 において、光出射部 150 および光検出部 160 は、便宜上、紙面に沿って配列されているが、光出射部 150 および光検出部 160 は、図 2 に示されるように、図 1 の紙面に垂直な方向に沿って配列されている。図 2 においては、測定チップ 10 内の光路を示すために、測定チップ 10 の断面へのハッチングを省略している。なお、図 1 において、光 1 の光軸が点線で示されているのは、光 1 の光軸および光 2 の光軸が図 1 の紙面に垂直な平面内に含まれることを示している。

#### 【0017】

S P F S 装置 100 は、搬送部 140 のチップホルダー（ホルダー）142 に測定チップ 10 を装着した状態で使用される。そこで、先に測定チップ 10 について説明し、その後 S P F S 装置 100 について説明する。

10

#### 【0018】

（測定チップ）

測定チップ 10 は、プリズム 20、金属膜 30 および流路蓋 40 を有する。本実施の形態では、測定チップ 10 の流路蓋 40 は、後述の液体チップ 50 と一体化されている。

#### 【0019】

プリズム 20 は、入射面 21、成膜面 22 および出射面 23 を有する。入射面 21 は、励起光出射部 110 からの励起光（特許請求の範囲では、「第 8 の光」と称している）をプリズム 20 の内部に入射させる。成膜面 22 上には、金属膜 30 が配置されている。プリズム 20 の内部に入射した励起光は、プリズム 20 と金属膜 30 との界面（成膜面 22）で反射されて反射光となる。出射面 23 は、反射光をプリズム 20 の外部に出射させる。

20

#### 【0020】

プリズム 20 の形状は、特に限定されない。本実施の形態では、プリズム 20 の形状は、台形を底面とする柱体である。台形の一方の底辺に対応する面が成膜面 22 であり、一方の脚に対応する面が入射面 21 であり、他方の脚に対応する面が出射面 23 である。底面となる台形は、等脚台形であることが好ましい。これにより、入射面 21 と出射面 23 とが対称になり、励起光の S 波成分がプリズム 20 内に滞留しにくくなる。

#### 【0021】

入射面 21 は、励起光出射部 110 からの励起光が入射面 21 で反射して励起光出射部 110 に戻らないように形成される。励起光の光源がレーザーダイオード（以下「LD」ともいう）である場合、励起光が LD に戻ると、LD の励起状態が乱れてしまい、励起光の波長や出力が変動してしまう。そこで、理想的な共鳴角または増強角を中心とする走査範囲において、励起光が入射面 21 に垂直に入射しないように、入射面 21 の角度が設定される。

30

#### 【0022】

ここで「共鳴角」とは、金属膜 30 に対する励起光の入射角を走査した場合に、出射面 23 から出射される励起光の反射光の光量が最小となるときの、入射角を意味する。また、「増強角」とは、金属膜 30 に対する励起光の入射角を走査した場合に、測定チップ 10 の上方に放出される励起光と同一波長の散乱光（以下「プラズモン散乱光」という）の光量が最大となるときの、入射角を意味する。本実施の形態では、入射面 21 と成膜面 22 との角度および成膜面 22 と出射面 23 との角度は、いずれも約 80° である。

40

#### 【0023】

なお、測定チップ 10 の設計により、共鳴角（およびその極近傍にある増強角）が概ね決まる。設計要素は、プリズム 20 の屈折率や、金属膜 30 の屈折率、金属膜 30 の厚み、金属膜 30 の消衰係数、励起光の波長などである。金属膜 30 上に捕捉された被測定物質によって共鳴角および増強角がシフトするが、その量は数度未満である。

#### 【0024】

プリズム 20 は、励起光に対して透明な誘電体からなる。プリズム 20 は、複屈折特性を少なからず有する。プリズム 20 の材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。プ

50



プリズム 20 を構成する樹脂の例には、ポリメタクリル酸メチル (PMMA)、ポリカーボネート (PC)、およびシクロオレフィン系ポリマーが含まれる。プリズム 20 の材料は、好ましくは、屈折率が 1.4 ~ 1.6 であり、かつ複屈折が小さい樹脂である。

#### 【0025】

詳細については後述するが、本実施の形態では、金属膜 30 は、プリズム 20 側の面において、表面プラズモン共鳴を生じる場所を提供するとともに、流路 41 側の面において、流路 41 内を通過した光を反射させる「反射部」として機能する。

#### 【0026】

金属膜 30 は、プリズム 20 の成膜面 22 上に配置されている。これにより、成膜面 22 に全反射条件で入射した励起光の光子と、金属膜 30 中の自由電子との間で表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance: 以下「SPR」と略記する) が生じ、金属膜 30 の表面上に局在場光 (一般に「エバネッセント光」または「近接場光」とも呼ばれる) を生じさせることができる。局在場光は、金属膜 30 の表面から励起光の波長程度離れた距離まで及ぶ。金属膜 30 は、成膜面 22 上の全面に形成されていてもよいし、成膜面 22 上の一部に形成されていてもよい。本実施の形態では、金属膜 30 は、成膜面 22 の全面に形成されている。

#### 【0027】

金属膜 30 は、光出射部 150 から出射された、流路 41 内を通過した光を、流路 41 内を再度通過するように鏡面反射させる。本実施の形態では、金属膜 30 は、流路蓋 40 で測定チップ 10 内に入射した第 1 の光  $\lambda_1$  を流路蓋 40 に向けて鏡面反射させる。金属膜 30 の反射率は、例えば、40 ~ 98 % である。また、金属膜 30 の材料として、銀やアルミニウムなどを用いて金属膜 30 を形成した場合には、反射率が高い金属膜 30 が得られる。この場合、金属膜 30 の反射率は、例えば、85 ~ 98 % である。

#### 【0028】

金属膜 30 には、被測定物質を捕捉するための捕捉体が固定化されている。金属膜 30 上において、捕捉体が固定化されている領域を、特に「反応場」という。捕捉体は、金属膜 30 の全面に固定化されていてもよいし、表面の一部に固定化されていてもよい。第 1 の光  $\lambda_1$  が捕捉体により散乱されるのを抑制する観点からは、金属膜 30 の、反射部として機能する領域 (第 1 の光  $\lambda_1$  が鏡面反射する領域) においては、捕捉体は固定化されていないことが好ましい。また、捕捉体は、被測定物質に特異的に結合する。このため、被測定物質は、捕捉体を介して金属膜 30 上に固定化され得る。

#### 【0029】

捕捉体の種類は、被測定物質を捕捉することができれば特に限定されない。たとえば、捕捉体は、被測定物質に特異的に結合可能な抗体 (1 次抗体) またはその断片、被測定物質に特異的に結合可能な酵素などである。

#### 【0030】

金属膜 30 の材料は、表面プラズモン共鳴を生じさせ得るとともに、その表面で光を鏡面反射できる金属であれば特に限定されない。金属膜 30 の材料の例には、金、銀、銅、アルミニウム、およびこれらの合金が含まれる。本実施の形態では、金属膜 30 は、金薄膜である。金属膜 30 の厚みは、特に限定されないが、SPR を効率的に発生させる観点から、20 ~ 60 nm の範囲内が好ましい。金属膜 30 の形成方法は、特に限定されない。金属膜 30 の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、メッキが含まれる。

#### 【0031】

流路蓋 40 は、金属膜 30 上に配置されている。金属膜 30 がプリズム 20 の成膜面 22 の一部にのみ形成されている場合、流路蓋 40 は、成膜面 22 上に配置されていてもよい。本実施の形態では、流路蓋 40 は、金属膜 30 の上に配置されている。金属膜 30 上に流路蓋 40 を配置することで液体を収容するための空洞である流路 41 が形成される。本実施の形態では、流路 41 は、底面と、天面と、当該底面および当該天面を接続する一対の側面とを有する。本明細書中、流路 41 のプリズム 20 側の面を「流路 41 の底面」といい、流路 41 の、流路 41 の底面と対向する面を「流路 41 の天面」という。また、

流路 4 1 の天面と流路 4 1 の底面との間隔を流路 4 1 の高さ  $h$  とする。

【 0 0 3 2 】

図 2 に示されるように、流路蓋 4 0 は、枠体 4 2、液体注入部被膜フィルム 4 3 および液体貯蔵部被膜フィルム 4 4 を有する。枠体 4 2 には、2 つの貫通孔が形成されている。枠体 4 2 の裏面には、凹部（流路溝）が形成されている。金属膜 3 0（およびプリズム 2 0）上に流路蓋 4 0（枠体 4 2）が配置され、当該凹部の開口部が金属膜 3 0 により閉塞されることで、流路 4 1 が形成される。さらに、一方の貫通孔の開口部が液体注入部被膜フィルム 4 3 により閉塞されることで、液体注入部 4 5 が形成され、他方の貫通孔の開口部が液体貯蔵部被膜フィルム 4 4 により閉塞されることで、液体貯蔵部 4 6 が形成される。液体貯蔵部被膜フィルム 4 4 には、通気孔 4 7 が設けられている。

10

【 0 0 3 3 】

局在場光が及ぶ領域を十分に確保する観点からは、流路 4 1 の高さ  $h$ （流路溝の深さ）は、ある程度大きいことが好ましい。流路 4 1 内に混入する不純物の量を低減する観点からは、流路 4 1 の高さ  $h$ （流路溝の深さ）は、小さいことが好ましい。このような観点から、流路 4 1 の高さ  $h$  は、0.05 ~ 0.15 mm の範囲内であることが好ましい。流路 4 1 の両端は、流路 4 1 内と外部とを連通させるように、流路蓋 4 0 に形成された液体注入部 4 5 および液体貯留部 4 6 とそれぞれ接続されている（図 2 参照）。

【 0 0 3 4 】

枠体 4 2 は、金属膜 3 0 上から放出される光（蛍光 およびプラズモン散乱光）と、金属膜 3 0 に向けて出射される第 1 の光  $\lambda_1$ （および第 1 の光  $\lambda_1$  と同じ波長の光  $\lambda_2$ （後述））とに対して透明な材料からなることが好ましい。枠体 4 2 の材料の例には、ガラスおよび樹脂が含まれる。当該樹脂の例には、ポリメタクリル酸メチル樹脂（PMMA）が含まれる。また、上記の光に対して透明であれば、枠体 4 2 の他の部分は、不透明な材料で形成されていてもよい。枠体 4 2 は、例えば、両面テープや接着剤などによる接着や、レーザー溶着、超音波溶着、クランプ部材を用いた圧着などにより金属膜 3 0 またはプリズム 2 0 に接合されている。

20

【 0 0 3 5 】

液体注入部被覆フィルム 4 3 は、ピペットチップ 1 3 4 を挿入可能であり、かつピペットチップ 1 3 4 を挿入した際には、ピペットチップ 1 3 4 の外周に隙間なく密着することが可能なフィルムである。たとえば、液体注入部被覆フィルム 4 3 は、弾性フィルムおよび粘着フィルムの 2 層フィルムである。液体注入部被覆フィルム 4 3 には、ピペットチップ 1 3 4 を挿入するための微細な貫通孔を設けられていてもよい。本実施の形態では、液体注入部被覆フィルム 4 3 に外径が 1.2 mm のピペットチップ挿入用貫通孔 4 8 が設けられている。

30

【 0 0 3 6 】

前述のとおり、液体貯留部被覆フィルム 4 4 は、通気孔 4 7 を有する。液体貯留部被覆フィルム 4 4 の構成は、特に制限されない。たとえば、液体貯留部被覆フィルム 4 4 は、前述の液体注入部被覆フィルム 4 3 と同様の 2 層フィルムであってもよい。

【 0 0 3 7 】

前述のとおり、本実施の形態では、測定チップ 1 0 および液体チップ 5 0 は、一体化されている（図 1 参照）。より具体的には、枠体 4 2 および液体チップ 5 0 が一体化されている。液体チップ 5 0 は、液体を収容する容器である。また、液体チップ 5 0 は、分注された検体を収容したり、液体を所期の濃度に希釈したりするために用いられてもよい。液体チップ 5 0 は、液体を収容するためのウェルを有する。ウェルの開口部は、液体を収容した状態でフィルムなどにより閉塞されていてもよい。ウェルの開口部を閉塞するフィルムは、液体チップ 5 0 の使用前にユーザーにより取り除かれてもよい。また、ピペットチップ 1 3 4 がフィルムを貫くことができる場合は、ウェルの開口部がフィルムで閉塞された状態で液体チップ 5 0 が使用されてもよい。

40

【 0 0 3 8 】

液体チップ 5 0 に収容される液体の例には、血液を含む検体や、蛍光物質で標識された

50

捕捉体を含む標識液、洗浄液（緩衝液）、第1の光<sub>1</sub>に対して透明な液体（後述の参照液、第1の液）、溶血剤、色素を含む液体（後述の第2の液）およびこれらの希釈液が含まれる。

#### 【0039】

測定チップ10および液体チップ50は、通常、測定のたびに交換される。また、測定チップ10は、好ましくは各片の長さが数mm～数cmの構造物であるが、「チップ」の範疇に含まれないより小型の構造物またはより大型の構造物であってもよい。

#### 【0040】

（SPFS装置）

次に、SPFS装置100の各構成要素について説明する。前述のとおり、SPFS装置100は、励起光出射部110、シグナル検出部120、送液部130、搬送部140、光出射部150、光検出部160および制御処理部（処理部）170を有する。

#### 【0041】

励起光出射部110は、励起光（特許請求の範囲では、「第8の光」と称している）を出射する。蛍光の検出時には、励起光出射部110は、金属膜30で表面プラズモン共鳴が発生するように、金属膜30に対するP波を入射面21に向けて出射する。ここで「励起光」とは、蛍光物質を直接もしくは間接に励起させる光である。たとえば、励起光は、プリズム20を介して金属膜30に表面プラズモン共鳴が生じる角度で照射されたときに、蛍光物質を励起させる局在場光を金属膜30の表面上に生じさせる光である。励起光出射部110は、光源ユニット111、角度調整機構112および光源制御部113を含む。

#### 【0042】

第1の光源ユニット111は、コリメートされ、かつ波長および光量が一定の光を、金属膜30の裏面における照射スポットの形状が略円形となるように出射する。第1の光源ユニット111は、例えば、光源、ビーム整形光学系、APC機構および温度調整機構（いずれも不図示）を含む。

#### 【0043】

光源の種類は、特に限定されず、例えばレーザーダイオード（LD）である。光源の他の例には、発光ダイオードや水銀灯などのレーザー光源が含まれる。光源から出射される励起光の波長は、例えば、400nm～1000nmの範囲内である。光源から出射される励起光がビームでない場合は、励起光は、レンズや鏡、スリットなどによりビームに変換される。また、光源から出射される励起光が単色光でない場合は、励起光は、回折格子などにより単色光に変換される。さらに、光源から出射される励起光が直線偏光でない場合は、励起光は、偏光子などにより直線偏光の光に変換される。

#### 【0044】

ビーム整形光学系は、例えば、コリメーターやバンドパスフィルター、直線偏光フィルター、半波長板、スリット、ズーム手段などを含む。ビーム整形光学系は、これらのすべてを含んでいてもよいし、一部を含んでいてもよい。

#### 【0045】

コリメーターは、光源から出射された励起光をコリメートする。

#### 【0046】

バンドパスフィルターは、光源から出射された励起光を中心波長のみの狭帯域光にする。光源から出射された励起光は、若干の波長分布幅を有しているためである。

#### 【0047】

直線偏光フィルターは、光源から出射された励起光を直線偏光の光にする。

#### 【0048】

半波長板は、金属膜30にP波成分が入射するように光の偏光方向を調整する。

#### 【0049】

スリットおよびズーム手段は、金属膜30の裏面における照射スポットの形状が所定サイズの円形となるように、光源から出射された励起光のビーム径や輪郭形状などを調整

10

20

30

40

50

する。

【0050】

A P C 機構は、光源の出力が一定となるように光源を制御する。より具体的には、A P C 機構は、励起光 から分岐させた光の光量を不図示のフォトダイオードなどで検出する。そして、A P C 機構は、回帰回路で投入エネルギーを制御することで、光源の出力を一定に制御する。

【0051】

温度調整機構は、例えば、ヒーターやペルチェ素子などである。光源から出射された励起光 の波長およびエネルギーは、温度によって変動することがある。このため、温度調整機構で光源の温度を一定に保つことにより、光源から出射された励起光 の波長およびエネルギーを一定に制御する。

10

【0052】

角度調整機構 1 1 2 は、金属膜 3 0 ( プリズム 2 0 と金属膜 3 0 との界面 ( 成膜面 2 2 ) ) に対する励起光 の入射角を調整する。角度調整機構 1 1 2 は、プリズム 2 0 を介して金属膜 3 0 の所定の位置に向けて所定の入射角で光を照射するために、光源から出射された励起光 の光軸とチップホルダー 1 4 2 とを相対的に回転させる。たとえば、角度調整機構 1 1 2 は、金属膜 3 0 上において励起光 の光軸と直交する軸 ( 図 1 の紙面に対して垂直な軸 ) を中心として光源ユニット 1 1 1 を回動させる。このとき、入射角を走査しても金属膜 3 0 上での照射スポットの位置がほとんど変化しないように、回転軸の位置を設定する。特に、回転中心の位置を、入射角の走査範囲の両端における 2 つの光源から出射された励起光 の光軸の交点近傍 ( 成膜面 2 2 上の照射位置と入射面 2 1 との間 ) に設定することで、照射位置のズレを極小化することができる。

20

【0053】

前述のとおり、光源から金属膜 3 0 に対して出射された励起光 の入射角のうち、プラズモン散乱光 の光量が最大となる角度が増強角である。光源から出射された励起光 の入射角を増強角またはその近傍の角度に設定することで、高強度の蛍光 およびプラズモン散乱光 を検出することが可能となる。プリズム 2 0 の材料および形状、金属膜 3 0 の厚み、流路 4 1 内の液体の屈折率などにより、光源から出射された励起光 の基本的な入射条件が決まるが、流路 4 1 内の捕捉体の種類および量、プリズム 2 0 の形状誤差などにより、最適な入射条件はわずかに変動する。このため、測定ごとに最適な増強角を求めることが好ましい。

30

【0054】

第 1 の光源制御部 1 1 3 は、第 1 の光源ユニット 1 1 1 に含まれる各種機器を制御して、第 1 の光源ユニット 1 1 1 からの励起光 の出射を制御する。第 1 の光源制御部 1 1 3 は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

【0055】

シグナル検出部 1 2 0 は、金属膜 3 0 上に、検体中の被測定物質が存在する状態で、励起光 出射部 1 1 0 がプリズム 2 0 を介して金属膜 3 0 に、表面プラズモン共鳴が生じる入射角で励起光 を照射したときに、測定チップ 1 0 で生じるシグナル ( 例えば、蛍光 、 反射光 またはプラズモン散乱光 ) を検出する。被測定物質は、流路 4 1 内で固定化されていてもよいし、固定化されていなくてもよい。本実施の形態では、シグナル検出部 1 2 0 は、金属膜 3 0 上に、検体中に含まれていた被測定物質が固定化され、かつ流路 4 1 内に検体が存在しない状態で、上記シグナルを検出する。シグナル検出部 1 2 0 は、検出したシグナル量 ( 例えば、蛍光 の光量、反射光 ' の光量、またはプラズモン散乱光 の光量 ) を示す信号を制御処理部 1 7 0 に出力する。シグナル検出部 1 2 0 は、受光光学系ユニット 1 2 1、位置切替え機構 1 2 2 および第 1 のセンサー制御部 1 2 7 を含む。

40

【0056】

受光光学系ユニット 1 2 1 は、測定チップ 1 0 の金属膜 3 0 の法線上に配置される。受光光学系ユニット 1 2 1 は、第 1 のレンズ 1 2 3、光学フィルター 1 2 4、第 2 のレンズ

50

１２５および第１の受光センサー１２６を含む。

【００５７】

位置切替え機構１２２は、光学フィルター１２４の位置を、受光光学系ユニット１２１における光路上または光路外に切り替える。具体的には、第１の受光センサー１２６が蛍光を検出するときには、光学フィルター１２４を受光光学系ユニット１２１の光路上に配置し、第１の受光センサー１２６がプラズモン散乱光を検出するときには、光学フィルター１２４を受光光学系ユニット１２１の光路外に配置する。

【００５８】

第１のレンズ１２３は、例えば、集光レンズであり、金属膜３０上から出射される光（シグナル）を集光する。第２のレンズ１２５は、例えば、結像レンズであり、第１のレンズ１２３で集光された光を第１の受光センサー１２６の受光面に結像させる。両レンズの間において、光は、略平行の光束となっている。

【００５９】

光学フィルター１２４は、第１のレンズ１２３および第２のレンズ１２５の間に配置されている。光学フィルター１２４は、蛍光検出時においては、光学フィルター１２４に入射する光のうち、蛍光成分のみを透過させ、励起光成分（プラズモン散乱光）を除去する。これにより、蛍光成分のみを第１の受光センサー１２６に導き、高いＳ／Ｎ比で蛍光を検出することができる。光学フィルター１２４の種類の例には、励起光反射フィルター、短波長カットフィルターおよびバンドパスフィルターが含まれる。光学フィルター１２４の例には、所定の光成分を反射する多層膜を含むフィルターと、所定の光成分を吸収する色ガラスフィルターとが含まれる。

【００６０】

第１の受光センサー１２６は、蛍光およびプラズモン散乱光を検出する。第１の受光センサー１２６は、微量の被測定物質からの微弱な蛍光を検出することが可能な、高い感度を有する。第１の受光センサー１２６は、例えば、光電子増倍管（ＰＭＴ）やアバランシェフォトダイオード（ＡＰＤ）、シリコンフォトダイオード（ＳｉＰＤ）などである。

【００６１】

第１のセンサー制御部１２７は、第１の受光センサー１２６の出力値の検出や、当該出力値による第１の受光センサー１２６の感度の管理、適切な出力値を得るための第１の受光センサー１２６の感度の変更などを制御する。第１のセンサー制御部１２７は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

【００６２】

送液部１３０は、チップホルダー１４２に保持された測定チップ１０の流路４１内に、液体チップ５０内の液体を供給する。また、送液部１３０は、測定チップ１０の流路４１内から液体を除去する。さらに、送液部１３０は、液体チップ５０内の液体を分注し、かつ希釈する。送液部１３０は、ピペット１３１およびピペット制御部１３５を含む。

【００６３】

ピペット１３１は、シリンジポンプ１３２と、シリンジポンプ１３２に接続されたノズルユニット１３３と、ノズルユニット１３３の先端に装着されたピペットチップ１３４とを有する。シリンジポンプ１３２内のプランジャーの往復運動によって、ピペットチップ１３４における液体の吸引および排出が定量的に行われる。

【００６４】

ピペット制御部１３５は、シリンジポンプ１３２の駆動装置、およびノズルユニット１３３の移動装置を含む。シリンジポンプ１３２の駆動装置は、シリンジポンプ１３２のプランジャーを往復運動させるための装置であり、例えば、ステッピングモーターを含む。ノズルユニット１３３の移動装置は、例えば、ノズルユニット１３３を、垂直方向に自在に動かす。ノズルユニット１３３の移動装置は、例えば、ロボットアーム、２軸ステージまたは上下動自在なターンテーブルによって構成される。

## 【0065】

ピペット制御部135は、シリンジポンプ132を駆動して、液体チップ50から各種液体をピペットチップ134内に吸引させる。そして、ピペット制御部135は、ノズルユニット133を移動させて、測定チップ10の流路41内にピペットチップ134を挿入させるとともに、シリンジポンプ132を駆動して、ピペットチップ134内の液体を流路41内に注入させる。また、液体の導入後、ピペット制御部135は、シリンジポンプ132を駆動して、流路41内の液体をピペットチップ134内に吸引させる。このように流路41内の液体を順次交換することによって、反応場において捕捉体と被測定物質を反応させたり（1次反応）、被測定物質と蛍光物質で標識された捕捉体とを反応させたりする（2次反応）。また、送液部130は、上記のように液体チップ50内の液体を吸引したり、吐出したりすることで、検体を分注したり、希釈したりする。

10

## 【0066】

搬送部140は、測定チップ10を設置位置、検体中の被測定物質の量を示す測定値を取得するための第1の測定位置、ヘマトクリット値を取得するための第2の測定位置または送液位置に搬送し、固定する。ここで「設置位置」とは、測定チップ10をSPFS装置100に設置するための位置である。また、「第1の測定位置」とは、励起光出射部110が測定チップ10に向けて励起光を出射したときに、測定チップ10から放出されるシグナルをシグナル検出部120が検出する位置である。また、「第2の測定位置」とは、光出射部150が金属膜30に向けて第1の光 $\lambda_1$ を出射したときに、測定チップ10内で反射した光 $\lambda_1'$ を光検出部160が検出する位置である。さらに、「送液位置」とは、送液部130が測定チップ10の流路41内に液体を供給するか、または測定チップ10の流路41内の液体を除去する位置である。

20

## 【0067】

搬送部140は、搬送ステージ141およびチップホルダー142を含む。

## 【0068】

搬送ステージ141は、チップホルダー142を一方向およびその逆方向に移動させる。搬送ステージ141も、励起光 $\lambda_1$ や、励起光 $\lambda_1$ の反射光 $\lambda_1'$ 、蛍光 $\lambda_2$ 、プラズモン散乱光 $\lambda_3$ 、第1の光 $\lambda_1$ 、第1の光 $\lambda_1$ の反射光 $\lambda_1'$ などの光の光路を妨げない形状である。搬送ステージ141は、例えば、ステッピングモーターなどで駆動される。

30

## 【0069】

チップホルダー142は、搬送ステージ141に固定されており、測定チップ10を着脱可能に保持する。チップホルダー142の形状は、測定チップ10を保持することができ、かつ励起光 $\lambda_1$ や励起光 $\lambda_1$ の反射光 $\lambda_1'$ 、蛍光 $\lambda_2$ 、プラズモン散乱光 $\lambda_3$ 、第1の光 $\lambda_1$ 、第1の光 $\lambda_1$ の反射光 $\lambda_1'$ などの光の光路を妨げない形状である。たとえば、チップホルダー142には、上記の光が通過するための開口が設けられている。

## 【0070】

光出射部150は、赤血球が吸収する波長の光を含む第1の光 $\lambda_1$ を出射する。本実施の形態では、光出射部150は、流路41側から金属膜30に向けて第1の光 $\lambda_1$ を出射する。第1の光 $\lambda_1$ は、赤血球に含まれるヘモグロビンが吸収する波長の光を含むことが好ましい。光出射部150は、第2の光源ユニット151および第2の光源制御部152を含む。

40

## 【0071】

第2の光源ユニット151は、コリメートされ、かつ波長および光量が一定の第1の光 $\lambda_1$ を、金属膜30に向けて出射する。第2の光源ユニット151は、例えば、光源、コリメーター、APC機構および温度調整機構（いずれも不図示）を含む。コリメーター、APC機構および温度調整機構については、第1の光源ユニット111のコリメーター、APC機構および温度調整機構と同様であるため、その説明を省略する。光源の温度変化による第1の光 $\lambda_1$ の波長のばらつきを抑制する観点から、第2の光源ユニット151は、温度調整機構を有することが好ましい。

## 【0072】

50

金属膜 30 の外縁部よりも内側に第 1 の光  $L_1$  を照射して、第 1 の光  $L_1$  が金属膜 30 以外の領域に照射されることによるエネルギー効率の低下を抑制する観点から、光源は、レーザー光源であることが好ましい。レーザー光源は、LED のような指向性が低い光源と比較して、より小さい照射スポットで金属膜 30 に第 1 の光  $L_1$  を照射することができる。光源は、例えば、レーザーダイオード (LD) である。光源の他の例には、発光ダイオードや水銀灯などのレーザー光源が含まれる。光出射部 150 からの第 1 の光  $L_1$  の中心波長は、例えば、500 ~ 650 nm である。光源から出射される第 1 の光  $L_1$  がビームでない場合は、第 1 の光  $L_1$  は、レンズや鏡、スリットなどによりビームに変換される。

#### 【0073】

第 2 の光源制御部 152 は、第 2 の光源ユニット 151 に含まれる各種機器を制御して、第 2 の光源ユニット 151 からの第 1 の光  $L_1$  の出射を制御する。第 2 の光源制御部 152 は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

#### 【0074】

光検出部 160 は、第 1 の光  $L_1$  が測定チップ 10 内で反射することで得られる光  $L_2$  を検出する。たとえば、流路 41 内に検体が存在する状態では、光検出部 160 は、光出射部 150 が金属膜 30 に向けて第 1 の光  $L_1$  を出射したときに、第 1 の光  $L_1$  が流路 41 内の検体を透過し、金属膜 30 で反射し、かつ流路 41 内の検体を再度透過することで得られる第 2 の光  $L_2$  を検出する。光検出部 160 は、検出した光  $L_2$  の光量を示す信号を出力する。光検出部 160 は、第 2 の受光センサー 161 および第 2 のセンサー制御部 162 を含む。

#### 【0075】

第 2 の受光センサー 161 は、測定チップ 10 内で反射した第 1 の光  $L_1$  である光  $L_2$  を検出する。第 2 の受光センサー 161 は、例えば、光電子増倍管 (PMT) やアバランシェフォトダイオード (APD)、シリコンフォトダイオード (SiPD) などである。

#### 【0076】

第 2 のセンサー制御部 162 は、第 2 の受光センサー 161 の出力値の検出や、当該出力値による第 2 の受光センサー 161 の感度の管理、適切な出力値を得るための第 2 の受光センサー 161 の感度の変更などを制御する。第 2 のセンサー制御部 162 は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

#### 【0077】

前述のとおり、図 2 は、実施の形態 1 に係る測定システム 1 におけるヘマトクリット値取得部の構成を示す断面模式図である。図 2 は、第 1 の光  $L_1$  の光軸と、第 1 の光  $L_1$  の測定チップ 10 での反射光  $L_2$  の光軸とを含む平面 (図 1 の紙面に対して垂直な面) に対して垂直な方向から見たときの図である。図 2 に示されるように、光出射部 150 (第 2 の光源ユニット 151) および光検出部 160 (第 2 の受光センサー 161) は、第 1 の光  $L_1$  の光軸と、第 1 の光  $L_1$  の反射光  $L_2$  の光軸とを含む平面が流路 41 の長手方向に沿うように配置されていることが好ましい。これにより、流路 41 の長手方向において、第 1 の光  $L_1$  の照射スポットの位置がずれたとしても、第 1 の光  $L_1$  が流路 41 以外の領域に照射されることを抑制することができる。また、第 1 の光  $L_1$  が金属膜 30 に対して垂直に入射した場合と比較して、第 1 の光  $L_1$  が金属膜 30 に対して斜めから入射した場合には、金属膜 30 上における第 1 の光  $L_1$  の照射スポットの形状は、一方向に伸びた形状となる。金属膜 30 に対する第 1 の光  $L_1$  の入射角に応じて照射スポットが伸びる方向は、流路 41 の長手方向に沿っていることが好ましい。これにより、照射スポットが伸びる方向が流路 41 の短手方向に沿う場合と比較して、照射スポットの位置がずれたとしても、第 1 の光  $L_1$  が流路 41 (金属膜 30) 以外の領域に照射されるのを抑制することができる。なお、照射スポットの位置ずれの原因には、搬送ステージ 141 におけるチップホルダー 142 の位置決め誤差や、チップホルダー 142 に対する測定チップ 10 の設置

10

20

30

40

50

誤差などが含まれる。

#### 【0078】

制御処理部170は、角度調整機構112、第1の光源制御部113、位置切替え機構122、第1のセンサー制御部127、ピペット制御部135、搬送ステージ141、第2の光源制御部152および第2のセンサー制御部162を制御する。制御処理部170は、シグナル検出部120（第1の受光センサー126）および光検出部160（第2の受光センサー161）の検出結果を処理する処理部としても機能する。本実施の形態では、制御処理部170は、シグナル検出部120による蛍光の検出結果に基づいて、検体中の被測定物質の量を示す測定値を決定する。また、制御処理部170は、光検出部160による第2の光<sub>2</sub>の検出結果に基づいて検体のヘマトクリット値を決定する。これとともに、制御処理部170は、ヘマトクリット値に基づいて上記測定値を補正する。これにより、制御処理部170は、血漿または血清中の被測定物質の量（濃度）を決定する。また、制御処理部170には、上記の検出結果を処理する際に使用される所定の情報（例えば、種々の変換係数、検量線に関するデータ）などがあらかじめ記録されていてもよい。本実施の形態では、制御処理部170には、ヘマトクリット関連値（後述）をヘマトクリット値に変換するための係数があらかじめ記録されている。制御処理部170は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

10

#### 【0079】

（SPFS装置における光路）

20

図1に示されるように、励起光は、入射面21からプリズム20内に入射する。プリズム20内に入射した励起光は、金属膜30に全反射角度（SPRが生じる角度）で入射する。このように、金属膜30に対して励起光をSPRが生じる角度で照射することで、金属膜30上に局在場光を発生させることができる。この局在場光により、金属膜30上に存在する被測定物質を標識する蛍光物質が励起され、蛍光が放出される。SPFS装置100は、蛍光物質から放出された蛍光の光量（強度）を検出する。なお、特に図示していないが、金属膜30での励起光の反射光は、出射面23でプリズム20外に出射する。

#### 【0080】

また、図2に示されるように、本実施の形態では、第1の光<sub>1</sub>は、流路蓋40の枠体42を介して流路41（測定チップ10）内に入射する。第1の光<sub>1</sub>は、測定チップ10内で反射して光'となる。光'は、流路蓋40の枠体42を介して流路41（測定チップ10）外に出射される。SPFS装置100は、測定チップ10から出射された光'の光量（強度）を検出する。

30

#### 【0081】

本明細書において、測定チップ10内での第1の光<sub>1</sub>の反射光'には、流路41内に存在する液体の種類または測定チップ10内の反射位置に応じて異なる符号が付されている。流路41内に検体が存在する場合、第1の光<sub>1</sub>は、流路41内の検体を透過し、金属膜30で反射し、かつ流路41内の検体を再度透過して第2の光<sub>2</sub>となる。第1の光<sub>1</sub>に対して透明な参照液で、流路41内が満たされている場合、第1の光<sub>1</sub>は、流路41内の参照液を透過し、金属膜30で反射し、かつ流路41内の参照液を再度透過して第7の光<sub>7</sub>となる。

40

#### 【0082】

（測定システムの動作手順）

次に、実施の形態1に係る測定システム1の動作手順（実施の形態1に係る測定方法）について説明する。図3は、測定システム1の動作手順の一例を示すフローチャートである。図4は、図3に示される光学プランク値の測定工程（工程S113）内の工程を示すフローチャートである。本実施の形態では、検体中の被測定物質の量を示す測定値として、蛍光の光量である蛍光値が測定される。

#### 【0083】

50



まず、測定の準備をする（工程 S 1 1 0）。具体的には、S P F S 装置 1 0 0 の設置位置に配置されたチップホルダー 1 4 2 に、測定チップ 1 0 を設置する。測定チップ 1 0 の金属膜 3 0 上に保存試薬が存在する場合は、捕捉体が適切に被測定物質を捕捉できるように、金属膜 3 0 上を洗浄して保存試薬を除去する。

#### 【 0 0 8 4 】

次いで、検体を分注し、希釈する（工程 S 1 1 1）。具体的には、制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、液体チップ 5 0 内の検体を、測定値（蛍光値）測定用の第 1 の検体と、ヘマトクリット値測定用の第 2 の検体とに分ける。第 1 の検体および第 2 の検体は、それぞれ液体チップ 5 0 の空のウェルに収容される。本工程 S 1 1 1 では、測定精度および測定感度の観点から、第 1 の検体をさらに希釈する。第 1 の検体を希釈しないと、検体中の不純物が捕捉体に吸着（非特異吸着）する量が増加して、ノイズが増加してしまい、結果として、測定精度を悪化させてしまうおそれがある。また、捕捉体の量と比較して被測定物質の量が多すぎる場合、捕捉体で捕捉できる被測定物質の量が飽和してしまい、高濃度な検体の濃度を特定することができなくなってしまう。希釈液としては、例えば、生理食塩水が使用され得る。第 1 の検体は、例えば、2 ～ 5 0 倍に希釈される。

10

#### 【 0 0 8 5 】

次いで、金属膜 3 0（成膜面 2 2）に対する励起光の入射角を増強角に設定する（工程 S 1 1 2）。具体的には、制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を設置位置から送液位置に移動させる。制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、液体チップ 5 0 内の励起光に対して透明な参照液（後述）を流路 4 1 内に提供する。制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を送液位置から第 1 の測定位置に移動させる。制御処理部 1 7 0 は、位置切替え機構 1 2 2 を制御して、光学フィルター 1 2 4 を受光光学系ユニット 1 2 1 の光路外に移動させる。制御処理部 1 7 0 は、第 1 の光源制御部 1 1 3、角度調整部 1 1 2 および第 1 のセンサー制御部 1 2 7 を制御して、第 1 の光源ユニット 1 1 1 から励起光を、金属膜 3 0 の所定の位置に、金属膜 3 0 に対する励起光の入射角度を走査しながら照射するとともに、第 1 の受光センサー 1 2 6 でプラズモン散乱光を検出する。これにより、制御処理部 1 7 0 は、励起光の入射角と、プラズモン散乱光の光量との関係を含むデータを得る。得られたデータは、制御処理部 1 7 0 に記憶される。そして、制御処理部 1 7 0 は、データを解析して、プラズモン散乱光の光量が最大となる入射角である増強角を決定する。最後に、制御処理部 1 7 0 は、角度調整部 1 1 2 を制御して、金属膜 3 0（成膜面 2 2）に対する励起光の入射角を決定した増強角に設定する。

20

30

#### 【 0 0 8 6 】

なお、増強角は、プリズム 2 0 の素材および形状、金属膜 3 0 の厚み、流路 4 1 内の液体の屈折率などにより決まるが、流路 4 1 内の捕捉体の種類および量、プリズム 2 0 の形状誤差などの各種要因によりわずかに変動する。このため、測定を行うたびに増強角を決定することが好ましい。増強角は、0 . 1 ° 程度のオーダーで決定される。

#### 【 0 0 8 7 】

次いで、光学ブランク値を測定する（工程 S 1 1 3）。本実施の形態において、光学ブランク値は、蛍光値（測定値）の決定に使用される第 1 のブランク値と、ヘマトクリット値の決定に使用される第 2 のブランク値とを含む。ここで、「第 1 のブランク値」とは、参照液が流路 4 1 内に存在する状態で、測定チップ 1 0 の上方に放出される背景光の光量を意味する。また、「第 2 のブランク値」とは、参照液が流路 4 1 内に存在する状態で、光出射部 1 5 0 が金属膜 3 0 に向けて第 1 の光  $\gamma_1$  を出射したときに、第 1 の光  $\gamma_1$  が流路 4 1 内の参照液を透過し、金属膜 3 0 で反射し、かつ流路 4 1 内の参照液を再度透過することで得られる第 7 の光  $\gamma_7$  の光量を意味する。

40

#### 【 0 0 8 8 】

本実施の形態では、参照液は、励起光 および第 1 の光  $\gamma_1$  に対して透明である。なお、参照液の屈折率は、検体の屈折率と同じか同程度であることが好ましい。これにより、

50

流路 4 1 内に参照液が存在する場合と、流路 4 1 内に検体が存在する場合とにおいて、枠体 4 2 の流路溝（凹部）の底面（流路 4 1 の天面）における第 1 の光  $I_1$  の反射率を同じか同程度にすることができるとともに、金属膜 3 0 の表面における光  $I_0$  の反射率を同じか同程度にすることができるとともに、金属膜 3 0 の表面における光  $I_0$  の反射率を同じか同程度にすることができる。

#### 【 0 0 8 9 】

図 4 に示されるように、工程 S 1 1 3 では、まず、第 1 のブランク値を測定する（工程 S 1 1 3 1）。制御処理部 1 7 0 は、位置切替え機構 1 2 2 を制御して、光学フィルター 1 2 4 を受光光学系ユニット 1 2 1 の光路上に移動させる。次いで、制御処理部 1 7 0 は、第 1 の光源制御部 1 1 3 を制御して、金属膜 3 0（成膜面 2 2）に向けて第 1 の光源ユニット 1 1 1 から励起光  $I_1$  を出射させる。これと同時に、制御処理部 1 7 0 は、第 1 の光 10  
センサー制御部 1 2 7 を制御して、第 1 の受光センサー 1 2 6 で蛍光  $I_2$  とほぼ同じ波長の光の光量を検出する。これにより、第 1 の受光センサー 1 2 6 は、蛍光値の測定（工程 S 1 1 6）においてノイズとなる光の光量（第 1 のブランク値）を測定することができる。第 1 のブランク値は、制御処理部 1 7 0 に送信され、記録される。

#### 【 0 0 9 0 】

次いで、第 2 のブランク値を測定する（工程 S 1 1 3 2）。制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を第 1 の測定位置から第 2 の測定位置に移動させる。次いで、制御処理部 1 7 0 は、第 2 の光源制御部 1 5 2 を制御して、第 2 の光源ユニット 1 5 1 から金属膜 3 0 に第 1 の光  $I_1$  を照射させる。これと同時に、制御処理部 1 7 0 は、第 2 の光 20  
センサー制御部 1 6 2 を制御して、第 2 の受光センサー 1 6 1 で、金属膜 3 0 で反射した第 7 の光  $I_7$  を検出する。これにより、第 2 の受光センサー 1 6 1 は、ヘマトクリット値の測定においてノイズとなる光の光量（第 2 のブランク値）を測定することができる。第 2 のブランク値は、制御処理部 1 7 0 に送信され、記録される。なお、第 2 のブランク値は、下記式（1）で表される参照液の吸光度  $OD_1$  として記録されてもよい。

#### 【 数 1 】

$$OD_1 = -\log \frac{I_1}{I_0} \quad \dots (1)$$

【上記式（1）において、 $OD_1$  は参照液の吸光度であり、 $I_0$  は第 1 の光  $I_1$  の光量であり、 $I_7$  は第 7 の光  $I_7$  の光量である。】

#### 【 0 0 9 1 】

次いで、検体中の被測定物質と金属膜 3 0 上の捕捉体とを反応させる（1 次反応；工程 S 1 1 4）。具体的には、制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を第 2 の測定位置から送液位置に移動させる。この後、制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、流路 4 1 内の参照液を排出し、工程 S 1 1 1 において希釈された第 1 の検体を流路 4 1 内に提供する。これにより、検体中に被測定物質が存在する場合には、被測定物質の少なくとも一部は金属膜 3 0 上の捕捉体により捕捉される。な 40  
お、第 1 の検体は、溶血していない。この後、流路 4 1 内を緩衝液などで洗浄して、捕捉体に捕捉されなかった物質を除去する。なお、被測定物質の例には、トロポニン、ミオグロビンおよびクレアチンキナーゼ - MB（CK-MB）が含まれる。

#### 【 0 0 9 2 】

次いで、反射膜 3 0 上の捕捉体に捕捉された被測定物質を蛍光物質で標識する（2 次反応；工程 S 1 1 5）。具体的には、制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、液体チップ 5 0 内の蛍光標識液を流路 4 1 内に提供する。これにより、被測定物質を蛍光物質で標識することができる。蛍光標識液は、例えば、蛍光物質で標識された抗体（2 次抗体）を含む緩衝液である。この後、流路 4 1 内を緩衝液などで洗浄し、遊離の蛍光物質などを除去する。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 9 3 】

次いで、反応場の被測定物質を標識している蛍光物質から放出される蛍光を検出して、蛍光値を測定する（工程 S 1 1 6）。具体的には、制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、液体チップ 5 0 内の測定用の緩衝液を流路 4 1 内に提供する。制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を送液位置から第 1 の測定位置に移動させる。この後、制御処理部 1 7 0 は、第 1 の光源制御部 1 1 3 を制御して、検体中に含まれていた被測定物質が固定化され、かつ検体が存在しない状態で、励起光出射部 1 1 0 の第 1 の光源ユニット 1 1 1 から励起光を、プリズム 2 0 を介して捕捉体が固定化されている領域に対応する金属膜 3 0 の裏面に、表面プラズモン共鳴が生じる入射角で照射する。これとともに、制御処理部 1 7 0 は、第 1 のセンサー制御部 1 2 7 を制御して、測定チップ 1 0 内で生じる蛍光（シグナル）を第 1 の受光センサー 1 2 6 で検出する。これにより、第 1 の受光センサー 1 2 6 は、蛍光の光量である蛍光値（測定値）を取得する。蛍光値は、制御処理部 1 7 0 に送信され、記録される。なお、本明細書中、「検体が存在しない状態」とは、流路 4 1 内から検体を除去する操作が行われた状態をいう。すなわち、流路 4 1 内に検体を実質的に存在していなければよく、流路 4 1 内に除去しきれなかった検体がわずかに残存していてもよい。

10

## 【 0 0 9 4 】

次いで、工程 S 1 1 1 において分注された第 2 の検体中の血液を溶血するとともに、希釈する（工程 S 1 1 7）。制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、液体チップ 5 0 内に収容されている第 2 の検体中に、他の液体チップ 5 0 内に収容されている溶血剤を提供する。これにより、第 2 の検体中の血液を溶血するとともに、希釈することができる。このとき、第 2 の検体は、例えば、1 ~ 2 0 倍に希釈される。このとき、第 2 の検体の希釈倍率が 1 倍の場合、第 2 の検体は希釈されていないことを示している。希釈倍率が大きいほど、検体の吸収光量は少なくなる。このため、希釈倍率が大きすぎると、十分な測定分解能が得られなくなる。

20

## 【 0 0 9 5 】

次いで、ヘマトクリット関連値を取得する（工程 S 1 1 8）。具体的には、制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を第 1 の測定位置から送液位置に移動させる。制御処理部 1 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、液体チップ 5 0 中の血液が溶血した状態の検体を流路 4 1 内に提供する。次いで、制御処理部 1 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を送液位置から第 2 の測定位置に移動させる。次いで、検体が流路 4 1 内に存在する状態で、制御処理部 1 7 0 は、光出射部 1 5 0 の第 2 の光源制御部 1 5 2 を制御して、第 2 の光源ユニット 1 5 1 から金属膜 3 0 に第 1 の光  $I_1$  を照射させる。これと同時に、制御処理部 1 7 0 は、第 2 のセンサー制御部 1 6 2 を制御して、第 2 の受光センサー 1 6 1 で、流路 4 1 内の検体を透過し、金属膜 3 0 で反射し、かつ流路 4 1 内の検体を再度透過した第 2 の光  $I_2$  を検出する。これにより、第 2 の受光センサー 1 6 1 は、第 2 の光  $I_2$  の光量を測定する。測定値は、制御処理部 1 7 0 に送信され、記録される。なお、第 2 の光  $I_2$  の光量は、下記式（2）で表される検体の吸光度  $OD_2$  として記録されてもよい。

30

## 【 数 2 】

40

$$OD_2 = -\log \frac{I_2}{I_0} \quad \dots (2)$$

[ 上記式（2）において、 $OD_2$  は検体の吸光度であり、 $I_0$  は第 1 の光  $I_1$  の光量であり、 $I_2$  は第 2 の光  $I_2$  の光量である。]

## 【 0 0 9 6 】

検体の吸光度  $OD_2$  は、検体による光の吸収に起因するシグナル成分と、それ以外の要因に起因するノイズ成分（第 2 のブランク値）とを含む。したがって、制御処理部 1 7 0

50

は、工程 S 1 1 8 で得られた検体の吸光度  $OD_2$  から、工程 S 1 1 3 2 で得られたノイズ成分（第 2 のブランク値）を引くことで、シグナル成分を算出することができる。制御処理部 1 7 0 は、本工程 S 1 1 8 で得られた測定値（第 2 の光  $I_2$  の光量または検体の吸光度  $OD_2$  ）と、工程 S 1 1 3 2 で得られた測定値（第 7 の光  $I_7$  の光量または参照液の吸光度  $OD_1$  ）とに基づいて、下記式（3）で表されるヘマトクリット関連値  $Hct'$  を算出する。

【数 3】

$$Hct' = -\log \frac{I_2}{I_1} \quad \dots (3)$$

10

〔上記式（3）において、 $Hct'$  はヘマトクリット関連値であり、 $I_1$  は第 7 の光  $I_7$  の光量であり、 $I_2$  は第 2 の光  $I_2$  の光量である。〕

【0097】

なお、検体（ヘモグロビン）の吸光度は、第 1 の光  $I_1$  の波長に応じて変化する。第 1 の光  $I_1$  の波長を安定させて、高精度に吸光度を測定する観点から、光出射部 1 5 0 の光源の温度を一定に保たれるように調整することが好ましい。

【0098】

次いで、ヘマトクリット値を決定する（工程 S 1 1 9）。制御処理部 1 7 0 は、光検出部 1 6 0 による第 2 の光  $I_2$  の検出結果に基づいて検体のヘマトクリット値を決定する。本実施の形態では、制御処理部 1 7 0 は、制御処理部 1 7 0 にあらかじめ記録されている補正係数を、工程 S 1 1 8 で得られたヘマトクリット関連値に掛けることにより、ヘマトクリット値  $Hct$  を算出する。

20

【0099】

なお、前述のとおり、吸光度は、光出射部 1 5 0 から出射される第 1 の光  $I_1$  の波長に応じて変化する。このため、より正確なヘマトクリット値を得る観点からは、第 1 の光  $I_1$  の波長に基づいて、ヘマトクリット値を補正することが好ましい。たとえば、第 1 の光  $I_1$  の波長の基準値を 520 nm としてヘマトクリット値を算出した場合を考える。この場合、光検出部 1 6 0 が検出した第 2 の光  $I_2$  の波長が 530 nm であったときは、測定値と基準値とのずれ量（10 nm）に相当する赤血球の吸収率（吸光量）のずれ量を考慮して、第 1 の光  $I_1$  の波長が 520 nm のときの値となるようにヘマトクリット値  $Hct$  を補正すればよい。

30

【0100】

最後に、ヘマトクリット値に基づいて測定値を補正する（工程 S 1 2 0）。蛍光値は、被測定物質を標識する蛍光物質に由来する蛍光成分（シグナル成分）と、蛍光物質以外の要因に起因するノイズ成分（第 1 のブランク値）とを含む。したがって、制御処理部 1 7 0 は、工程 S 1 1 6 で得られた蛍光値から、工程 S 1 1 3 1 で得られた第 1 のブランク値を引くことで、検体中の被測定物質の量を示す測定値（シグナル成分）を算出することができる。さらに、制御処理部 1 7 0 は、算出された測定値に以下の式（4）で表される変換係数  $c$  を掛けることで、算出された測定値を血漿中の被測定物質の量に変換する。

40

【数 4】

$$c = \frac{df(1-Hct)}{df-1+(1-Hct)} \quad \dots (4)$$

〔上記式（4）において、 $Hct$  はヘマトクリット値（0～100%）であり、 $df$  は希釈液の希釈倍率である。〕

50

## 【0101】

以上の手順により、血漿中の被測定物質の量を決定することができる。

## 【0102】

なお、ヘマトクリット値を高精度に測定する観点から、第2のブランク値の測定（工程S1132）は、蛍光値の測定（工程S116）の後に行われてもよい。これにより、第2のブランク値の測定（工程S1132）と、ヘマトクリット関連値の取得（工程S118）との時間間隔を短くして、光出射部150の光源のパワーの変動や、光出射部150の温度変化に起因する第1の光 $\lambda_1$ の波長の変動などの影響を小さくすることができる。さらに、1次反応および2次反応に起因して、金属膜30の表面における第1の光 $\lambda_1$ の散乱状態が変化することも考えられるが、1次反応および2次反応の後に第2のブランク値の測定（工程S1132）と、ヘマトクリット関連値の取得（工程S118）とを行うことで、上記の散乱状態の変化の影響が及ばない。このような観点から、蛍光値の測定（工程S116）の後に第2のブランク値の測定（工程S1132）を行うことは好ましい。

10

## 【0103】

また、入射角を増強角に設定する工程（工程S112）、光学ブランク値を測定する工程（工程S113）および1次反応を行う工程（工程S114）をこの順番に行う態様について説明した。しかし、本発明に係る測定方法および測定装置では、これらの順番に限定されない。たとえば、1次反応を行った後に入射角を増強角に設定してもよいし、光学ブランク値を測定した後に1次反応を行ってもよい。

20

## 【0104】

また、1次反応を行う工程（工程S114）の後に、2次反応を行う工程（工程S115）を行った（2工程方式）。しかしながら、被測定物質を蛍光物質で標識するタイミングは、特に限定されない。たとえば、測定チップ10の流路41内に試料液を導入する前に、試料液に標識液を添加して被測定物質を予め蛍光物質で標識しておいてもよい。また、測定チップ10の流路内に試料液と標識液を同時に注入してもよい。前者の場合は、測定チップ10の流路41内に試料液を注入することで、蛍光物質で標識されている被測定物質が捕捉体により捕捉される。後者の場合は、被測定物質が蛍光物質で標識されるとともに、被測定物質が捕捉体により捕捉される。いずれの場合も、測定チップ10の流路41内に試料液を導入することで、1次反応および2次反応の両方を完了することができる（1工程方式）。

30

## 【0105】

（効果）

本実施の形態では、液体を収容するための流路41が空洞となっている。このため、本実施の形態に係る測定方法では、検体を試験紙に吸収させた状態で光学測定を行う従来の測定方法のように、試験紙による光の散乱が生じない。また、本実施の形態に係る測定方法では、色素による呈色反応を利用している従来の測定方法のように、色素による光の吸収も生じない。これらの結果として、本実施の形態に係る測定方法では、検体のヘマトクリット値を高精度に測定することができ、血漿中の被測定物質の量を高精度に決定することができる。

40

## 【0106】

また、本実施の形態に係る測定方法では、金属膜30によって第2の光 $\lambda_2$ となる光を流路41内において往復させる。これにより、金属膜30による反射を利用しない場合と比較して、第2の光 $\lambda_2$ となる光の流路41内の光路長を長くすることができる。この結果として、検体による光の吸収量を多くして、ヘマトクリット値を高精度に測定できる。これにより、血漿中の被測定物質の量を高精度に決定することができる。また、従来の測定方法では、試験紙による散乱によって、検体中の光の光路長がばらついてしまうのに対して、本実施の形態に係る測定方法では、流路41は、形状が一定の空洞となっているため、検体中の光の光路長が安定する。このような観点からも、ヘマトクリット値を高精度に測定でき、血漿中の被測定物質の量を高精度に決定することができる。

50

## 【 0 1 0 7 】

また、本実施の形態に係る測定方法では、S P F Sを利用して検体に含まれる被測定物質の量を示す測定値（蛍光値）を取得している。S P Rが生じるように励起光が金属膜30に照射されたとき、局在場光は、金属膜30の表面から励起光の波長程度離れた領域にしか及ばない。すなわち、蛍光値を測定する観点からは、当該領域を超えて流路41の高さを大きくする必要性は小さい。一方、流路41の高さを大きくすることにより、流路41内に混入し得る不純物の量が増えてしまい、蛍光値の測定精度が低下してしまう可能性もある。このような観点からは、流路41の高さは、小さいことが好ましい。しかしながら、流路41の高さが小さいと、流路41内の光の光路長も短くなってしまうため、検体による吸光量が小さくなり、ヘマトクリット値を高精度に測定できないとも考えられる。したがって、検体による吸光量を十分に確保しつつ、ヘマトクリット値を高精度に測定する観点からは、流路41の高さは、大きいことが好ましい。この点に関して、本実施の形態に係る測定方法では、流路41の高さは小さいものの、金属膜30を設けることによって検体中の光の光路長を長くしている。したがって、流路41内に混入し得る不純物の量を抑制しつつ、検体による吸光量も確保することができる。結果として、蛍光値およびヘマトクリット値をともに高精度に測定することができる。

10

## 【 0 1 0 8 】

また、本実施の形態に係る測定方法では、工程S 1 1 3 2において第2のブランク値を測定し、ノイズ成分の影響を除去することができる（工程S 1 1 8）。このため、ヘマトクリット値をより高精度に測定することができる。

20

## 【 0 1 0 9 】

さらに、上記実施の形態では、1次反応（工程S 1 1 4）の前に第2のブランク値の測定（工程S 1 1 3 2）を行った。このため、仮に、1次反応の後の流路41内の洗浄が十分でなく、流路41内に血液が残存してしまったとしても、第2のブランク値の測定に、血液の残存による影響が及ばないため、ヘマトクリット値を高精度に測定することができる。このような観点から、1次反応（工程S 1 1 4）の前に第2のブランク値の測定（工程S 1 1 3 2）を行うことは好ましい。

## 【 0 1 1 0 】

さらに、本実施の形態では、血液が溶血した状態の検体を透過した第2の光<sub>2</sub>の検出結果に基づいて、ヘマトクリット値を決定した。血液を溶血させることにより、赤血球による光の散乱の影響を小さくすることができる。この結果として、ヘマトクリット値をより高精度に測定でき、血漿中の被測定物質の量をより高精度に決定することができる。一方で、蛍光値の測定に使用される第1の検体は、血液を溶血させていない。これにより、溶血によって赤血球中のプロテアーゼ（タンパク質分解酵素）が赤血球外に流れ出し、被測定物質を分解してしまうことを防止し、蛍光値をより高精度に測定することができる。

30

## 【 0 1 1 1 】

## 〔 実施の形態 2 〕

実施の形態2では、流路の高さに基づいてヘマトクリット値を補正する。実施の形態2に係る測定システムおよび測定装置の構成は、光検出部を除いて実施の形態1に係る測定システムおよび測定装置と同じ構成であるため、同じ構成要素については、同じ符号を付してその説明を省略する。

40

## 【 0 1 1 2 】

## （ 測定システムおよびS P F S 装置 ）

図1は、実施の形態2に係る測定システム2の構成を示す模式図である。図1に示されるように、測定システム2は、測定チップ10およびS P F S 装置200を有する。S P F S 装置200は、励起光出射部110、シグナル検出部120、送液部130、搬送部140、光出射部150、光検出部260および制御処理部（処理部）270を有する。実施の形態2では、光出射部150および光検出部260は、検体のヘマトクリット値を取得するためのヘマトクリット値取得部を構成する。

## 【 0 1 1 3 】

50

光検出部 260 は、測定チップ 10 内での第 1 の光  $\lambda_1$  の反射光である光  $\lambda_1'$  を検出する。光検出部 260 は、検出した光  $\lambda_1'$  の光量を示す信号を出力する。光検出部 260 は、第 2 の受光センサー 261 および第 2 のセンサー制御部 162 を含む。

【0114】

第 2 の受光センサー 261 は、測定チップ 10 内での第 1 の光  $\lambda_1$  の反射光である光  $\lambda_1'$  を受光するためのアレイセンサーである。第 2 の受光センサー 261 の種類の例には、1 次元撮像素子（ラインセンサー）または 2 次元撮像素子（イメージセンサー）である。第 2 の受光センサー 261 の例には、電荷結合素子（CCD）および相補型金属酸化膜半導体素子（CMOS）が含まれる。

【0115】

制御処理部 270 は、流路 41 の高さを測定するための制御が加わる点を除いて、実施の形態 1 に係る制御処理部 170 と同様であるため、その説明を省略する。

【0116】

（測定システムの動作手順）

次に、実施の形態 2 に係る測定システム 2 の動作手順（実施の形態 2 に係る測定方法）について説明する。図 5 は、測定システム 2 の動作手順の一例を示すフローチャートである。

【0117】

実施の形態 1 に係る測定方法と同様にして、測定の準備（工程 S110）から検体の分注および希釈（工程 S111）までの工程を行う。

【0118】

次いで、流路 41 の高さを測定する（工程 S200）。具体的には、制御処理部 270 は、搬送ステージ 141 を制御して、測定チップ 10 を設置位置から第 2 の測定位置に移動させる。この後、制御処理部 270 は、第 2 の光源制御部 152 を制御して、第 2 の光源ユニット 151 から金属膜 30 に向けて第 1 の光  $\lambda_1$  を出射させる。これと同時に、制御処理部 270 は、第 2 のセンサー制御部 162 を制御して、流路 41 内が空洞である第 1 の状態で、第 1 の光  $\lambda_1$  が流路 41 内を通過し、金属膜 30 で反射し、かつ流路 41 内を再度通過することで得られる第 3 の光  $\lambda_3$  と、第 1 の光  $\lambda_1$  が流路 41 の、金属膜 30 に対向する面（流路 41 の天面）で反射することで得られる第 4 の光  $\lambda_4$  と、第 1 の光  $\lambda_1$  が枠体 42 の天面で反射することで得られる第 9 の光  $\lambda_9$  とを第 2 の受光センサー（アレイセンサー）261 により、それぞれ区別して検出する。第 3 の光  $\lambda_3$  の検出結果と、第 4 の光  $\lambda_4$  の検出結果とは、制御処理部 270 に送信され、記録される。

【0119】

次いで、制御処理部 270 は、搬送ステージ 141 を制御して、測定チップ 10 を第 2 の測定位置から送液位置に移動させる。制御処理部 270 は、ピペット制御部 135 を制御して、液体チップ 50 内に収容されている第 1 の光  $\lambda_1$  に対して透明な第 1 の液を提供する。第 1 の液の屈折率は、空気の屈折率（1.0）より大きく、かつ流路蓋 40（枠体 42）の屈折率（1.5）に近いほど好ましい。制御処理部 270 は、搬送ステージ 141 を制御して、測定チップ 10 を送液位置から第 2 の測定位置に再度移動させる。次いで、制御処理部 270 は、第 2 の光源ユニット 151 から金属膜 30 に第 1 の光  $\lambda_1$  を照射させる。これと同時に、制御処理部 270 は、第 2 のセンサー制御部 162 を制御して、第 1 の液で、流路 41 内が満たされている第 2 の状態で、第 1 の光  $\lambda_1$  が流路 41 内の第 1 の液を透過し、金属膜 30 で反射し、かつ流路 41 内の第 1 の液を再度透過することで得られる第 5 の光  $\lambda_5$  と、第 1 の光  $\lambda_1$  が枠体 42 の天面で反射することで得られる第 9 の光  $\lambda_9$  とを第 2 の受光センサー（アレイセンサー）261 により検出する。第 5 の光  $\lambda_5$  の検出結果は、制御処理部 270 に送信され、記録される。

【0120】

図 6 A、B は、流路 41 の高さの測定について説明するための図であり、実施の形態 2 に係る測定システム 2 におけるヘマトクリット値取得部の構成を示す模式図である。図 6 A、B においては、測定チップ 10 内の光路を示すために、測定チップ 10 の断面へのハ

10

20

30

40

50

ッチングを省略している。なお、図 6 A は、流路 4 1 内が空洞である状態（第 1 の状態）を示しており、図 6 B は、第 1 の液で流路 4 1 内が満たされている状態（第 2 の状態）を示している。

#### 【 0 1 2 1 】

まず、第 1 の状態における第 3 の光<sub>3</sub>、第 4 の光<sub>4</sub> および第 9 の光<sub>9</sub> の検出について説明する。図 6 A に示されるように、第 2 の光源ユニット 1 5 1 から出射された第 1 の光<sub>1</sub> は、金属膜 3 0 の表面（流路 4 1 の底面）だけではなく、枠体 4 2 の天面と、枠体 4 2 の凹部の底面（流路 4 1 の天面）とでも反射する。異なる位置で反射した光<sub>1</sub>（第 3 の光<sub>3</sub>、第 4 の光<sub>4</sub> および第 9 の光<sub>9</sub>）は、第 2 の受光センサー 2 6 1 の異なる位置に到達する。第 9 の光<sub>9</sub>、第 4 の光<sub>4</sub> および第 3 の光<sub>3</sub> は、この順で光出射部 1 5 0 から離れた位置の、第 2 の受光センサー 2 6 1（アレイセンサー）の受光面に到達する。このように、第 2 の受光センサー 2 6 1 は、測定チップ 1 0 内における反射位置が異なる光の光量をそれぞれ区別して測定することができる。

10

#### 【 0 1 2 2 】

次いで、第 2 の状態における第 5 の光<sub>5</sub> および第 9 の光<sub>9</sub> の検出について説明する。図 6 B に示されるように、第 2 の光源ユニット 1 5 1 から出射された第 1 の光<sub>1</sub> は、金属膜 3 0 の表面（流路 4 1 の底面）だけでなく、枠体 4 2 の天面でも反射する。第 1 の状態の場合と比較して、第 2 の状態においては、枠体 4 2 の凹部の底面（流路 4 1 の天面）で、光が反射しない。これは、枠体 4 2 の屈折率と同程度の屈折率を有する第 1 の液が流路 4 1 内に満たされているためである。

20

#### 【 0 1 2 3 】

そして、第 1 の状態における第 3 の光<sub>3</sub>、第 4 の光<sub>4</sub> および第 9 の光<sub>9</sub> の検出結果と、第 2 の状態における第 5 の光<sub>5</sub> および第 9 の光<sub>9</sub> の検出結果とに基づいて、流路 4 1 の高さを決定する。たとえば、第 1 の状態における検出結果と、第 2 の状態における検出結果とに基づいて下記の表 1 に示されるデータが得られたとする。表 1 では、反射位置 No.、各反射位置での反射率と、第 1 の状態における結果および第 2 の状態で得られる結果（反射率）の差分とを示している。

#### 【 0 1 2 4 】

#### 【表 1】

反射位置No.	反射率[%]		
	第 1 の状態	第 2 の状態	差分
1	4	4	0
2	4	0	4
3	60	60	0

30

#### 【 0 1 2 5 】

第 1 の状態および第 2 の状態において、反射位置 1 での反射率は、互いに同じであり、4 %であった。また、反射位置 3 での反射率も、第 1 の状態および第 2 の状態において、互いに同じであり、6 0 %であった。一方で、第 1 の状態における反射位置 2 での反射率と、第 2 の状態における反射位置 2 での反射率とは、互いに異なっていた。

40

#### 【 0 1 2 6 】

流路 4 1 の底面以外の位置における反射率と比較して、流路 4 1 の底面での反射率は大きい。すなわち、反射率が大きい反射位置 3 は、流路 4 1 の底面であると決定され得る。このように、流路 4 1 の底面の位置は、高精度に検出され得る。

#### 【 0 1 2 7 】

これに対して、流路 4 1 の天面での反射率と枠体 4 2 の天面での反射率とは、互いに同

50



程度であり、かつ小さい。このため、流路 4 1 の天面の位置および枠体 4 2 の天面の位置は、高精度に検出され難い。そこで、制御処理部 2 7 0 は、第 1 の状態における検出結果と、第 2 の状態における検出結果との差分を取ることで、反射位置 2 で反射した第 4 の光 4 のピークのみを抽出し、反射位置 2 を決定することができる。前述のとおり、第 1 の状態および第 2 の状態において屈折率が変化する反射位置 2 は、流路 4 1 の天面と決定され得る。

#### 【 0 1 2 8 】

反射位置 2 が決定されると、残りの反射位置 1 も決定され得る。第 1 の状態および第 2 の状態において、屈折率が変化しない反射位置 1 は、枠体 4 2 の天面であると決定され得る。

10

#### 【 0 1 2 9 】

したがって、制御処理部 2 7 0 は、流路 4 1 の底面の位置と、流路 4 1 の天面の位置とに基づいて、流路 4 1 の高さを決定することができる。

#### 【 0 1 3 0 】

次いで、実施の形態 1 に係る測定方法と同様にして、入射角の増強角への設定（工程 S 1 1 2）からヘマトクリット関連値の取得（工程 S 1 1 8）までの工程を行う。

#### 【 0 1 3 1 】

次いで、ヘマトクリット値を決定する（工程 S 2 1 9）。制御処理部 2 7 0 は、光検出部 1 6 0 による第 2 の光 2 の検出結果に基づいて検体のヘマトクリット値を決定する。本実施の形態では、制御処理部 2 7 0 は、制御処理部 2 7 0 にあらかじめ記録されている補正係数を、工程 S 1 1 8 で得られたヘマトクリット関連値に掛けることにより、ヘマトクリット値を算出する。さらに、本実施の形態では、工程 S 2 0 0 で測定された流路 4 1 の高さに基づいて、ヘマトクリット値を補正する。たとえば、流路 4 1 の高さの基準値を  $100\text{ }\mu\text{m}$  としてヘマトクリット値を算出した場合を考える。この場合、流路 4 1 の高さの測定値が  $110\text{ }\mu\text{m}$  であったときは、測定値と基準値とのずれ量（ $10\text{ }\mu\text{m}$ ）、つまり流路 4 1 の高さのずれ量に相当する検体の吸収率（吸光量）の変化量を考慮して、流路 4 1 の高さが  $100\text{ }\mu\text{m}$  のときの値となるようにヘマトクリット値を補正すればよい。

20

#### 【 0 1 3 2 】

最後に、実施の形態 1 での測定値の補正（工程 S 1 2 0）と同様にして、ヘマトクリット値に基づいて測定値を補正する。実施の形態 2 では、制御処理部 2 7 0 は、ヘマトクリット値として、工程 S 2 1 9 で得られた補正後のヘマトクリット値を使用する。

30

#### 【 0 1 3 3 】

以上の手順により、血漿中の被測定物質の量（濃度）を決定することができる。

#### 【 0 1 3 4 】

（効果）

実施の形態 2 では、実施の形態 1 の効果に加えて、より高精度にヘマトクリット値を測定し、より高精度に血漿中の被測定物質の量を決定することができる。実施の形態 2 では、流路 4 1 の高さに基づいてヘマトクリット値を補正することで、測定チップ 1 0 の製造時における寸法誤差の影響を取り除くことができる。これにより、測定チップ 1 0 に要求される寸法精度を低減することができる。

40

#### 【 0 1 3 5 】

〔実施の形態 3〕

実施の形態 3 でも、流路の高さに基づいてヘマトクリット値を補正する。実施の形態 3 に係る測定システムおよび測定装置は、測定装置の動作手順（測定方法）を除いて、実施の形態 1 に係る測定システムおよび測定装置と同じであるため、同じ構成要素については、同じ符号を付してその説明を省略する。

#### 【 0 1 3 6 】

（測定システムおよび S P F S 装置）

図 1 は、実施の形態 3 に係る測定システム 3 の構成を示す模式図である。図 1 に示されるように、測定システム 3 は、測定チップ 1 0 および S P F S 装置 3 0 0 を有する。S P

50

F S 装置 3 0 0 は、励起光出射部 1 1 0、シグナル検出部 1 2 0、送液部 1 3 0、搬送部 1 4 0、光出射部 1 5 0、光検出部 1 6 0 および制御処理部（処理部）3 7 0 を有する。

【 0 1 3 7 】

制御処理部 3 7 0 は、流路 4 1 の高さを測定するための制御が加わる点を除いて、実施の形態 1 に係る制御処理部 1 7 0 と同様であるため、その説明を省略する。なお、制御処理部 3 7 0 には、後述の第 6 の光  $\lambda_6$  の検出結果に基づいて、流路 4 1 の高さを決定するための検量線に関するデータが記録されている。

【 0 1 3 8 】

（ S P F S 装置の動作手順）

実施の形態 3 に係る測定システム 3 の動作手順（実施の形態 3 に係る測定方法）について説明する。図 7 は、測定システム 3 の動作手順の一例を示すフローチャートである。

10

【 0 1 3 9 】

実施の形態 1 に係る測定方法と同様にして、測定の準備（工程 S 1 1 0）からヘマトクリット関連値の取得（工程 S 1 1 8）までの工程を行う。

【 0 1 4 0 】

次いで、流路 4 1 の高さを測定する（工程 S 3 0 0）。具体的には、制御処理部 3 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を第 2 の測定位置から送液位置に移動させる。この後、制御処理部 3 7 0 は、ピペット制御部 1 3 5 を制御して、流路 4 1 内の液体を排出し、液体チップ 5 0 内に收容されている、第 1 の光  $\lambda_1$  の少なくとも一部の波長の光を吸収する色素を含む第 2 の液を提供する。制御処理部 3 7 0 は、搬送ステージ 1 4 1 を制御して、測定チップ 1 0 を送液位置から第 2 の測定位置に再度移動させる。次いで、制御処理部 3 7 0 は、第 2 の光源ユニット 1 5 1 から金属膜 3 0 に第 1 の光  $\lambda_1$  を照射させる。これと同時に、制御処理部 3 7 0 は、第 2 のセンサー制御部 1 6 2 を制御して、第 2 の液で流路 4 1 内が満たされている状態で、第 1 の光  $\lambda_1$  が流路 4 1 内の第 2 の液を透過し、金属膜 3 0 で反射し、かつ流路 4 1 内の第 2 の液を再度透過して第 6 の光  $\lambda_6$  を第 2 の受光センサー 1 6 1 により検出する。第 6 の光  $\lambda_6$  の検出結果は、制御処理部 3 7 0 に送信され、記録される。

20

【 0 1 4 1 】

制御処理部 3 7 0 は、光検出部 1 6 0 による第 6 の光  $\lambda_6$  の検出結果に基づいて、流路 4 1 の高さを決定する。第 2 の液中の第 6 の光  $\lambda_6$  の光路長は、流路 4 1 の高さに応じて変化する。第 2 の液中での第 6 の光  $\lambda_6$  の色素による吸収量は、第 2 の液中での第 6 の光  $\lambda_6$  の光路長に応じて変化する。したがって、第 6 の光  $\lambda_6$  の光量に基づいて、流路 4 1 の高さを決定することができる。たとえば、制御処理部 3 7 0 は、あらかじめ作成しておいた検量線と、第 6 の光  $\lambda_6$  の検出結果（光量）とに基づいて、流路 4 1 の高さを決定する。

30

【 0 1 4 2 】

次いで、ヘマトクリット値を決定する（工程 S 3 1 9）。制御処理部 3 7 0 は、光検出部 1 6 0 の検出結果に基づいて検体のヘマトクリット値を決定する。本実施の形態では、制御処理部 3 7 0 は、制御処理部 3 7 0 にあらかじめ記録されている補正係数を、工程 S 1 1 8 で得られたヘマトクリット関連値に掛けることにより、ヘマトクリット値を算出する。さらに、実施の形態 3 では、工程 S 3 0 0 で測定された流路 4 1 の高さに基づいて、ヘマトクリット値を補正する。たとえば、流路 4 1 の高さの基準値を  $100\ \mu\text{m}$  としてヘマトクリット値を算出した場合を考える。この場合、流路 4 1 の高さの測定値が  $110\ \mu\text{m}$  であったときは、測定値と基準値とのずれ量（ $10\ \mu\text{m}$ ）、つまり流路 4 1 高さのずれ量に相当する検体の吸収率（吸光量）の変化量を考慮して、流路 4 1 の高さが  $100\ \mu\text{m}$  のときの値となるようにヘマトクリット値を補正すればよい。

40

【 0 1 4 3 】

最後に、実施の形態 1 での測定値の補正（工程 S 1 2 0）と同様にして、ヘマトクリット値に基づいて測定値を補正する。実施の形態 3 では、制御処理部 3 7 0 は、ヘマトクリット値として、工程 S 3 1 9 で得られた補正後のヘマトクリット値を使用する。

50

## 【 0 1 4 4 】

以上の手順により、血漿中の被測定物質の量を決定することができる。

## 【 0 1 4 5 】

(効果)

実施の形態 3 では、実施の形態 2 と同様の効果を得られる。

## 【 0 1 4 6 】

[ 変形例 ]

(変形例 1)

上記実施の形態 1 ~ 3 では、金属膜である金属膜 30 において、第 1 の光  $\gamma_1$  を鏡面反射させるとともに、表面プラズモン共鳴を生じさせる態様について説明したが、本発明はこの態様に限定されない。図 8 は、変形例 1 に係る測定システムにおけるヘマトクリット値取得部の構成を示す模式図である。図 8 においては、測定チップ 10' 内の光路を示すために、測定チップ 10' の断面へのハッチングを省略している。図 8 に示されるように、第 1 の光  $\gamma_1$  を鏡面反射させるための反射部 30' と、表面プラズモンを生じさせる金属膜 30 とが別体として形成されていてもよい。なお、変形例 1 に係る測定チップ 10' のプリズム 20 は、励起光 および第 1 の光  $\gamma_1$  (および第 1 の光  $\gamma_1$  と同じ波長の光  $\gamma'$ ) に対して透明な誘電体からなる。

10

## 【 0 1 4 7 】

変形例 1 に係る測定チップ 10' では、反射部 30' は、流路 41 を挟んでプリズム 20 と対向するように配置されており、金属膜 30 は、プリズム 20 上に配置されている。変形例 1 では、反射部 30' は、枠体 42 の凹部の底面 (流路 41 の天面) に配置されている。

20

## 【 0 1 4 8 】

反射部 30' の材料は、その表面で光を鏡面反射できる金属であれば特に限定されない。反射部 30' の材料の例には、金、銀、銅、アルミニウム、およびこれらの合金が含まれる。変形例 1 では、反射部 30' は、金薄膜である。反射部 30' の厚みは、特に限定されないが、20 nm ~ 10  $\mu$ m の範囲内が好ましい。反射部 30' の形成方法は、特に限定されない。反射部 30' の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、メッキが含まれる。

## 【 0 1 4 9 】

変形例 1 では、光出射部 150 は、プリズム 20 側から反射部 30' に向けて第 1 の光  $\gamma_1$  を出射する。光検出部 160 は、光出射部 150 が反射部 30' に向けて第 1 の光  $\gamma_1$  をプリズム 20 側から出射したときに、第 1 の光  $\gamma_1$  が流路 41 内を通過し、反射部 30' で反射し、かつ流路 41 内を再度通過した光を検出する。

30

## 【 0 1 5 0 】

(変形例 2)

上記実施の形態 1 ~ 3 では、測定値取得部とヘマトクリット値測定部とが別体である態様について説明したが、本発明はこの態様に限定されない。図 9 は、変形例 2 に係る測定システムにおける測定値取得部およびヘマトクリット値取得部の構成を示す模式図である。図 9 に示されるように、測定値取得部およびヘマトクリット値取得部は、一体として構成されていてもよい。変形例 2 に係る S P F S 装置は、必要に応じて、他の光学素子を有していてもよい。変形例 2 に係る S P F S 装置は、第 2 の光源ユニット 151 からの第 1 の光  $\gamma_1$  を反射するためのミラー 153 を有する。

40

## 【 0 1 5 1 】

変形例 2 に係る S P F S 装置では、シグナル検出部 120 のシグナルを集光するための光学レンズ (第 1 レンズ 123 および第 2 レンズ 125) は、第 1 の光  $\gamma_1$  を金属膜 30 に導くとともに、測定チップ 10 内での第 1 の光  $\gamma_1$  の反射光  $\gamma'$  (例えば、第 2 の光  $\gamma_2$ ) を受光素子に導く光学レンズとしても機能する。また、シグナルを検出するための受光素子 (第 1 の受光センサー 126) は、第 1 の光  $\gamma_1$  の測定チップ 10 内での反射光  $\gamma'$  (例えば、第 2 の光  $\gamma_2$ ) を受光するための第 2 の受光センサー 161 としても機能す

50

る。このように、測定値取得部およびヘマトクリット値測定部が一体として構成されていることは、測定装置のコストの低減と、測定装置の小型化との観点から好ましい。また、第1の測定位置と、第2の測定位置との間の移動が不要となるため、測定時間を短くすることもできる。なお、変形例2では、光学フィルター124は、光'に対して透明であってもよいし、光'に対して透明でなくてもよい。光学フィルター124が光'に対して透明でない場合、光'を検出する際に、光学フィルター124は光路外に退避される。

#### 【0152】

また、上記実施の形態2、3に係る測定装置200、300の構成は、上記の態様に限定されない。上記実施の形態2、3に係る測定装置200、300では、流路41の高さを測定するための光(第3の光<sub>3</sub>、第4の光<sub>4</sub>、第6の光<sub>6</sub>および第9の光<sub>9</sub>)を受光する受光センサーとしては、第2の光<sub>2</sub>を受光する第2の受光センサー161、261と同じ受光センサーを使用する場合について説明したが、本発明はこの態様に限定されない。流路41の高さを測定するための上記光を受光する受光センサーと、第2の光<sub>2</sub>を受光するための第2の受光センサーとは、異なってもよい。測定装置の大型化を避ける観点からは、流路41の高さを測定するための上記光を受光するための受光センサーと、第2の光<sub>2</sub>を受光するための受光センサーとは、同じであることが好ましい。

#### 【0153】

また、上記実施の形態2、3では、流路41の高さを測定するとき、およびヘマトクリット値を測定するときにおいて、同一の光源ユニット(第2の光源ユニット151)を使用したが、使用される光源ユニットは、異なってもよい。

#### 【0154】

また、流路41の高さを測定する場合に、測定装置200、300のヘマトクリット値測定部を使用しなくてもよい。たとえば、レーザー変位計のような他の光学装置が準備されてもよい。

#### 【0155】

また、上記実施の形態2、3では、流路41の高さを測定する態様について説明したが、本発明はこの態様に限定されない。流路41の高さに関する情報は、測定チップの製造時にあらかじめ測定されていてもよい。流路41の高さに関する情報は、制御処理部270、370にあらかじめ記録されていてもよいし、バーコードなどの識別子として測定チップに付されていてもよい。これにより、被測定物質の量を測定するときに、流路41の高さを測定しなくてもよい。被測定物質の測定時間(診断時間)を短くすることができる。

#### 【0156】

また、上記実施の形態2、3では、流路41の高さに基づいてヘマトクリット値を補正する態様について説明したが、流路41の高さの代わりに第2の光<sub>2</sub>となる光の流路41内の光路長に基づいてヘマトクリット値を補正してもよい。

#### 【0157】

さらに、上記実施の形態1~3では、SPSF法を利用し、測定値として蛍光物質からの蛍光の蛍光値を測定する態様について説明したが、本発明はこの態様に限定されない。たとえば、SPR法を利用し、測定値として励起光の反射光の光量を測定してもよい。または、本発明は、ELISA法やRIFS法、QCM法などを利用して測定値を取得してもよい。

#### 【0158】

本出願は、2016年8月18日出願の特願2016-160753に基づく優先権を主張する。当該出願明細書および図面に記載された内容は、すべて本願明細書に援用される。

#### 【産業上の利用可能性】

#### 【0159】

本発明に係る被測定物質の測定方法、測定装置および測定システムは、被測定物質を高

10

20

30

40

50

い信頼性で検出することができるため、例えば疾患の検査などに有用である。

【符号の説明】

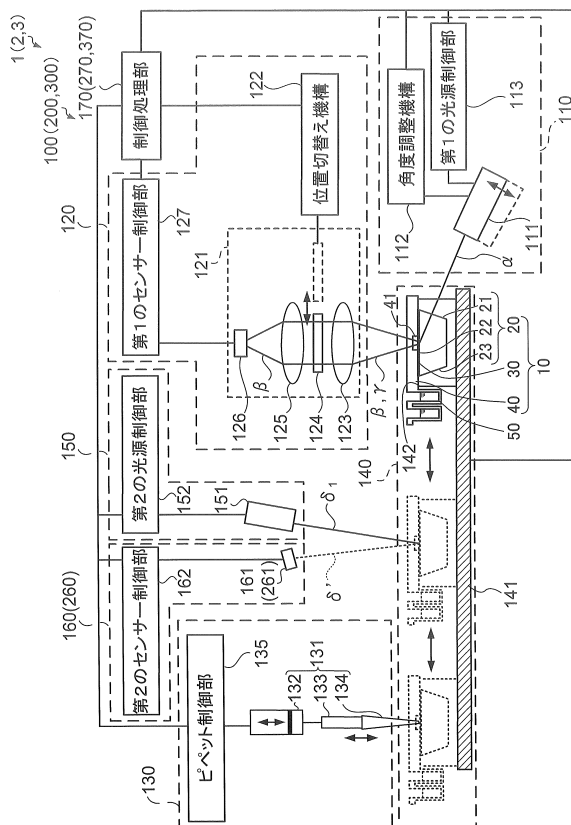
【 0 1 6 0 】

1、2、3	測定システム	
10、10'	測定チップ	
20	プリズム	
21	入射面	
22	成膜面	
23	出射面	
30	金属膜	10
30'	反射部	
40	流路蓋	
41	流路	
42	枠体	
43	液体注入部被膜フィルム	
44	液体貯蔵部被膜フィルム	
45	液体注入部	
46	液体貯蔵部	
47	通気孔	
48	ピペットチップ用貫通孔	20
50	液体チップ	
100、200、300	S P F S 装置	
110	励起光出射部（第2の光出射部）	
111	第1の光源ユニット	
112	角度調整機構	
113	第1の光源制御部	
120	シグナル検出部	
121	受光光学系ユニット	
122	位置切替え機構	
123	第1のレンズ	30
124	光学フィルター	
125	第2のレンズ	
126	第1の受光センサー	
127	第1のセンサー制御部	
130	送液部	
131	ピペット	
132	シリンジポンプ	
133	ノズルユニット	
134	ピペットチップ	
135	ピペット制御部	40
140	搬送部	
141	搬送ステージ	
142	チップホルダー	
150	光出射部	
151	第2の光源ユニット	
152	第2の光源制御部	
153	ミラー	
160、260	光検出部	
161、261	第2の受光センサー	
162	第2のセンサー制御部	50

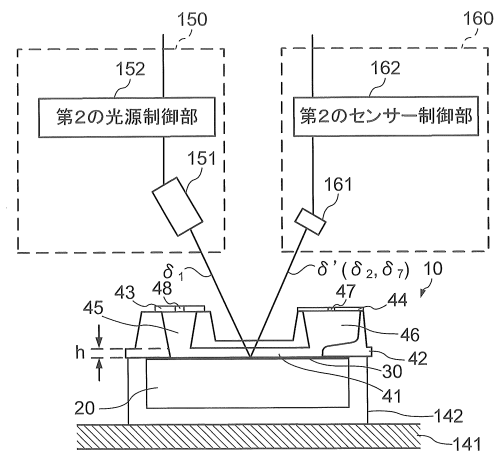
- 170、270、370 制御処理部  
 励起光（第8の光）  
 蛍光  
 プラズモン散乱光  
 第1の光  
 測定チップ内での第1の光の反射光  
 第2の光  
 第3の光  
 第4の光  
 第5の光  
 第7の光  
 第9の光

10

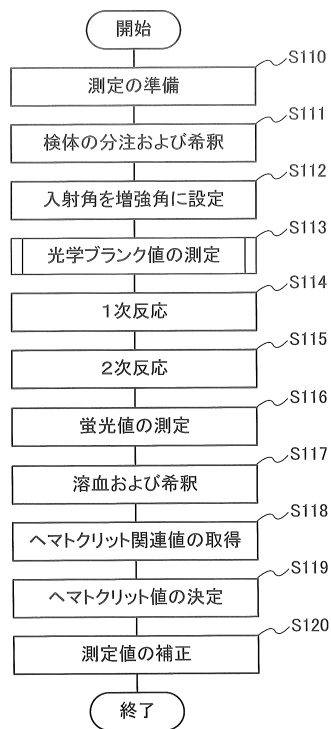
【図1】



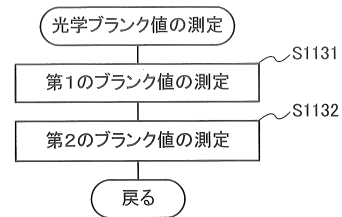
【図2】



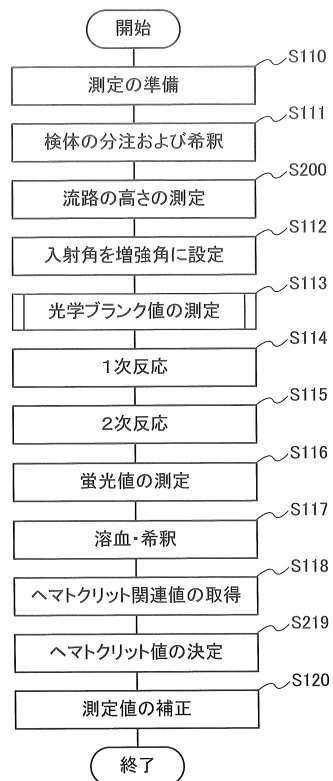
【図 3】



【図 4】



【図 5】



【図 6】

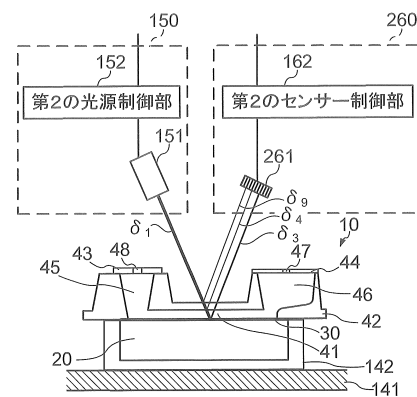


図6A

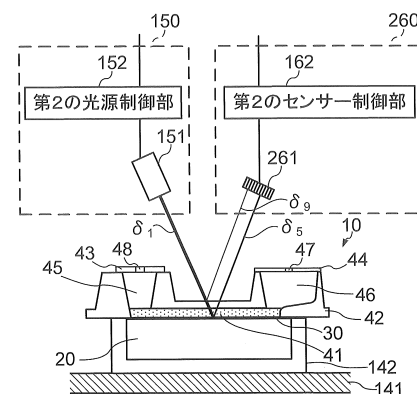
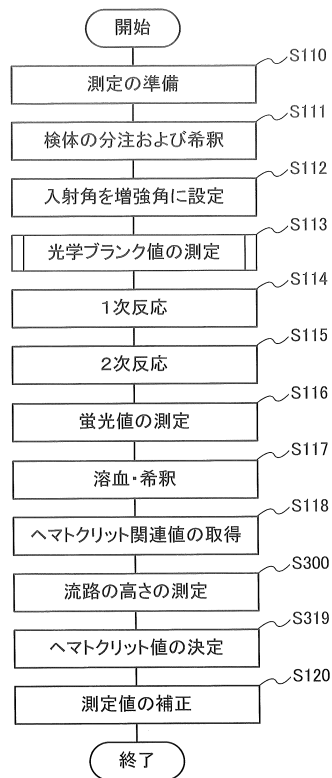
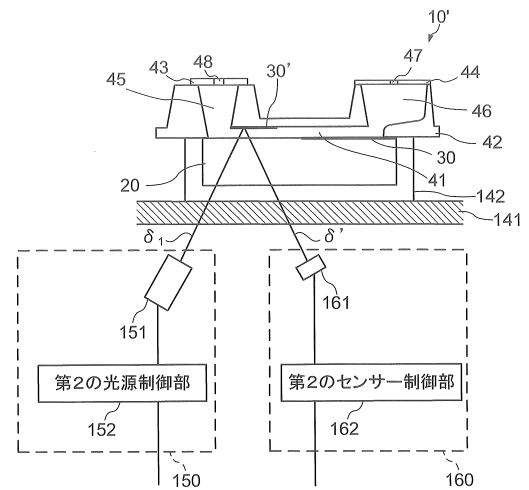


図6B

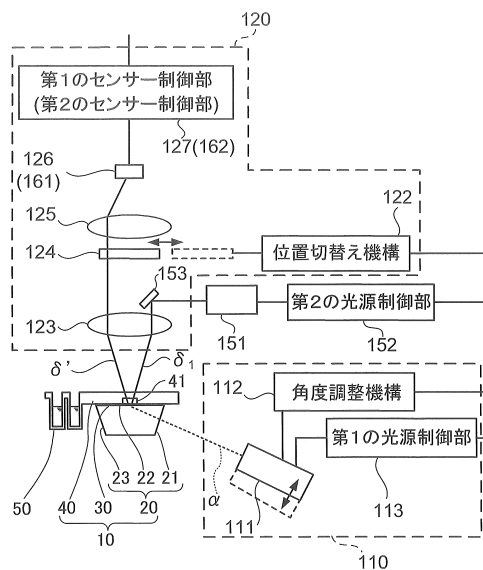
【図 7】



【図 8】



【図 9】





---

フロントページの続き

(72)発明者 藤井 英之

東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 コニカミノルタ株式会社内

審査官 倉持 俊輔

(56)参考文献 特開平09-105750(JP,A)

国際公開第2016/039149(WO,A1)

特開平11-104114(JP,A)

特開2012-088299(JP,A)

特開2004-097782(JP,A)

特開平06-038947(JP,A)

米国特許第06064474(US,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/49, 33/543, 33/553,

G01N 21/41, 21/64,

G01N 37/00