

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

特許第3326708号
(P3326708)

(45)発行日 平成14年9月24日(2002.9.24)

(24)登録日 平成14年7月12日(2002.7.12)

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

G 0 1 N 21/64

G 0 1 N 21/64

G

請求項の数16(全 15 頁)

(21)出願番号 特願平6-78998

(22)出願日 平成6年4月18日(1994.4.18)

(65)公開番号 特開平7-120397

(43)公開日 平成7年5月12日(1995.5.12)

審査請求日 平成12年10月10日(2000.10.10)

(31)優先権主張番号 特願平5-215966

(32)優先日 平成5年8月31日(1993.8.31)

(33)優先権主張国 日本 (J P)

(73)特許権者 000226862

日水製薬株式会社

東京都豊島区巢鴨2丁目11番1号

(72)発明者 長谷川 雅典

滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2

ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内

(72)発明者 上田 智章

滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2

ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内

(72)発明者 重森 和久

滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2

ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内

(74)代理人 100087804

弁理士 津川 友士

審査官 横井 亜矢子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 光学的測定装置およびその方法

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】 光導波路(1)内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路(1)の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(1)内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路(1)の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置であって、光導波路(1)の表面を1の区画面とする反応槽(2)に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子(9)(19)を添加してあることを特徴とする光学的測定装置。

【請求項2】 光導波路(1)内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路(1)の表面近傍に拘束

2

された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(1)内を全反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路(1)の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置であって、光導波路(1)の表面を1の区画面とする反応槽(2)に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を含有させてあることを特徴とする光学的測定装置。

【請求項3】 蛍光物質を含む試薬と測定対象溶液とを収容して所定の反応を行なわせる反応槽(2)(12)の一部が光導波路(1)(11)で構成されるとともに、光導波路(1)(11)に対して所定の相対角度で励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、光導波路(1)(11)に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽(2)

(12)内における光導波路(1)(11)の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置であって、上記反応槽(2)(12)に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質(9)(19)を添加してあることを特徴とする光学的測定装置。

【請求項4】 上記光学的測定装置は、光導波路(11)を通して反応槽(12)に導入されるように励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(11)内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路(11)の表面近傍の光学的特性を測定するものである請求項3に記載の光学的測定装置。

【請求項5】 上記光学的測定装置は、光導波路(11)内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路(11)の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(11)を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路(11)の表面近傍の光学的特性を測定するものである請求項3に記載の光学的測定装置。

【請求項6】 上記光学的測定装置は、光導波路(11)を所定角度を通して反応槽(12)に導入されるように励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、励起光と異なる所定角度で光導波路(11)を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路(11)の表面近傍の光学的特性を測定するものである請求項3に記載の光学的測定装置。

【請求項7】 上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質(9)(19)は、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子である請求項3から請求項6の何れかに記載の光学的測定装置。

【請求項8】 上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質(9)(19)は、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素である請求項3から請求項6の何れかに記載の光学的測定装置。

【請求項9】 光導波路(1)の表面を1の区画面とする反応槽(2)の内部において、上記光導波路(1)の上記表面に固相化されたリガンド(3)と上記反応槽(2)に注入された測定対象溶液と、蛍光物質(8a)で標識され、かつ上記反応槽(2)に注入されたリガンド(8)を含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路(1)内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(1)内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路(1)の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽(2)内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を

吸収する性質を有する微粒子(9)を含有させた状態で、上記光導波路(1)内を反射しながら伝播する成分を受光して反応槽(2)内における上記光導波路(1)の上記表面近傍の光学的特性を測定することを特徴とする光学的測定方法。

【請求項10】 光導波路(1)の表面を1の区画面とする反応槽(2)の内部において、上記光導波路(1)の上記表面に固相化されたリガンド(3)と上記反応槽(2)に注入された測定対象溶液と、蛍光物質(8a)で標識され、かつ上記反応槽(2)に注入されたリガンド(8)を含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路(1)内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(1)内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路(1)の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽(2)内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する水溶性色素を含有させた状態で、上記光導波路(1)内を反射しながら伝播する成分を受光して反応槽(2)内における上記光導波路(1)の上記表面近傍の光学的特性を測定することを特徴とする光学的測定方法。

【請求項11】 光導波路(1)(11)の表面を1の区画面とする反応槽(2)(12)の内部において、上記光導波路(1)(11)の上記表面に固相化されたリガンド(3)(13)と上記反応槽(2)(12)に注入された測定対象溶液と、蛍光物質(8a)(18a)で標識され、かつ上記反応槽(2)(12)に注入されたリガンド(8)(18)を含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路(1)(11)に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、上記光導波路(1)(11)に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽(2)(12)内における上記光導波路(1)(11)の上記表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽(2)(12)内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質(9)(19)を含有させた状態で、上記光導波路(1)(11)に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽(2)(12)内における上記光導波路(1)(11)の上記表面近傍の光学的特性を測定することを特徴とする光学的測定方法。

【請求項12】 上記光学的測定方法は、光導波路(11)を通して反応槽(12)に導入されるように励起光を照射するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(11)内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路(11)の表面近傍の光学的特性を測定する方法である請求項11に記載の光学的測定方法。

【請求項13】 上記光学的測定方法は、光導波路(11)内を全反射しながら伝播するように励起光を導入す

るとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路(11)を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路(11)の表面近傍の光学的特性を測定する方法である請求項11に記載の光学的測定方法。

【請求項14】 上記光学的測定方法は、光導波路(11)を所定角度を通して反応槽(12)に導入されるように励起光を照射するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、励起光と異なる所定角度で光導波路(11)を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路(11)の表面近傍の光学的特性を測定する方法である請求項11に記載の光学的測定方法。

【請求項15】 上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質(19)は、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子(19)である請求項11から請求項14の何れかに記載の光学的測定方法。

【請求項16】 上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質(19)は、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素である請求項11から請求項14の何れかに記載の光学的測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は光学的測定装置およびその方法に関し、さらに詳細に言えば、蛍光物質を含む試薬と測定対象溶液とを収容して所定の反応を行なわせる反応槽を構成するケーシングの一部が光導波路で構成されているとともに、光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置およびその方法に関する。特に好ましくは、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を全反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置およびその方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 従来から、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を全反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置を用いた蛍光免疫測定装置が提案されている。

【0003】 具体的には、例えば、スラブ型光導波路の一表面を1の区画面とする反応槽を設け、上記表面に予

め抗体(または抗原)を固定しておき、この反応槽の内部に測定対象溶液、蛍光色素で標識された抗体(以下、標識抗体と称する)をこの順に注入すればよく、測定対象溶液中の抗原濃度に対応する量の標識抗体が抗原抗体反応により上記表面の近傍に拘束される。

【0004】 したがって、励起光のエバネッセント波成分により上記拘束された標識抗体の蛍光色素を励起することができ、蛍光色素から放射され、スラブ型光導波路を伝播して出射される蛍光の強度に基づいて測定対象溶液中の抗原の濃度を検出することができる。また、従来から、光導波路の一側に反応槽を形成し、光導波路の表面に固相化されたリガンド(ligand)と、反応槽に注入された測定対象溶液と、反応槽に注入され、かつ蛍光色素で標識されたリガンドとの間で免疫反応を行なわせ、しかも、平面波を光導波路を通して反応槽に導入することにより蛍光物質を励起し、蛍光色素が放射する蛍光のうち、光導波路内を全反射しながら伝播する成分に基づいて上記免疫反応の程度を測定する蛍光免疫測定装置が提案されている(特許出願公表昭61-502418号公報参照)。尚、この明細書において、「リガンド」は、抗原、抗体、ハプテン、ホルモンの他、特異的な結合反応を起こせる有機物質を称する。

【0005】 したがって、励起光により反応槽内の標識抗体の蛍光色素を励起することができ、蛍光色素から放射される蛍光のうち、エバネッセント波結合により光導波路を伝播して出射される蛍光の強度に基づいて免疫反応の程度を検出することができる。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 上記前者の蛍光免疫測定装置は、光導波路の表面が完全な平滑面であれば、抗原抗体反応によって表面近傍に拘束されている蛍光色素のみが蛍光を発生し、未反応の蛍光色素は蛍光を発生しない。しかし、実際には光導波路の表面を完全な平滑面にすることは殆ど不可能であるから、エバネッセント波成分だけでなく励起光の散乱成分が蛍光色素を励起することになり、未反応の蛍光色素も蛍光を発生してしまうことになる。そして、光導波路の表面近傍に拘束された蛍光色素から放射される蛍光と未反応の標識抗体の蛍光色素から放射される蛍光(以下、迷光と称する)とを光学的に分離することは殆ど不可能である。また、迷光は温度等の外部要因による変動を受けやすい。したがって、蛍光免疫測定感度を余り高めることができない。

【0007】 このような不都合を解消するために、迷光に起因する信号と実際の反応に起因する信号(以下、実信号と称する)とを分離するための演算処理を行なうことが考えられるが、演算が著しく複雑であるとともに、測定時のデータ処理が複雑になるという不都合があり、しかも十分な測定精度を達成できる保証がないという不都合がある。

【0008】 また、励起光強度を低下させれば迷光を低

減することができるが、同時に実信号も小さくなるので、S/N比を改善することはできない。上記後者の蛍光免疫測定装置は、免疫反応の結果、光導波路の表面近傍に拘束された蛍光色素のみならず、免疫反応に寄与していない未反応の蛍光色素が励起光により励起されてしまう。また、未反応の蛍光色素が放射する蛍光は、反応槽の透明な区画壁を通して放射され、光導波路を全反射しながら伝播する信号光と共に光検出器により検出される。未反応の蛍光色素に起因する上記蛍光は、免疫反応に寄与した蛍光色素に起因する蛍光との分離が著しく困難であり、また、未反応の蛍光色素に起因する上記蛍光は温度等の外部要因の影響を受けて変動し易いので、測定感度を大きく阻害してしまう。

【0009】また、上記未反応の蛍光色素に起因する蛍光が光検出器により検出されてしまうことを防止するために、反応槽の光検出器側に、反応槽の側壁から射出し、かつ本来の免疫反応に寄与していない光を光検出器に対して遮蔽する板等を設けることが考えられるが、光学系の構成が複雑になってしまう。

【0010】

【発明の目的】この発明は上記の問題点を鑑みてなされたものであり、未反応の蛍光物質が放射する蛍光の量を全体として低減し、測定感度を向上させることができる光学的測定装置およびその方法を提供することを目的とし、特に、実信号に殆ど影響を及ぼすことなく、迷光を大幅に低減して光学的測定のS/N比を高めることができる光学的測定装置およびその方法を提供することを目的としている。

【0011】

【課題を解決するための手段】上記の目的を達成するための、請求項1の光学的測定装置は、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置であって、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子を添加してある。

【0012】請求項2の光学的測定装置は、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を全反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置であって、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を含有させてある。

【0013】請求項3の光学的測定装置は、蛍光物質を

含む試薬と測定対象溶液とを収容して所定の反応を行なわせる反応槽を構成するケーシングの一部が光導波路で構成されているとともに、光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定装置であって、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質を添加してある。

10 【0014】請求項4の光学的測定装置は、上記光学的測定装置として、光導波路を通して反応槽に導入されるように励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するものを採用している。請求項5の光学的測定装置は、上記光学的測定装置として、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するものを採用している。

20 【0015】請求項6の光学的測定装置は、上記光学的測定装置として、光導波路を所定角度を通して反応槽に導入されるように励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、励起光と異なる所定角度で光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するものを採用している。

30 【0016】請求項7の光学的測定装置は、上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する物質として、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子を採用している。請求項8の光学的測定装置は、上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する物質として、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を採用している。

40 【0017】請求項9の光学的測定方法は、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽の内部において、上記光導波路の上記表面に固相化されたリガンドと上記反応槽に注入された測定対象溶液と、蛍光物質で標識され、かつ上記反応槽に注入されたりガンドを含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する微粒子を含有させた状態で、上記

光導波路内を反射しながら伝播する成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定する方法である。

【0018】請求項10の光学的測定方法は、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽の内部において、上記光導波路の上記表面に固相化されたりガンドと上記反応槽に注入された測定対象溶液と、蛍光物質で標識され、かつ上記反応槽に注入されたりガンドを含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する水溶性色素を含有させた状態で、上記光導波路内を反射しながら伝播する成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定する方法である。

【0019】請求項11の光学的測定方法は、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽の内部において、上記光導波路の上記表面に固相化されたりガンドと上記反応槽に注入された測定対象溶液と、蛍光物質で標識され、かつ上記反応槽に注入されたりガンドを含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、上記光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質を含有させた状態で、上記光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定する方法である。

【0020】請求項12の光学的測定方法は、上記光学的測定方法として、光導波路を通して反応槽に導入されるように励起光を照射するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する方法を採用している。請求項13の光学的測定方法は、上記光学的測定方法として、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する方法を採用している。

【0021】請求項14の光学的測定方法は、上記光学的測定方法として、光導波路を所定角度で通して反応槽に導入されるように励起光を照射するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、励起光と異なる所定角度で光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波

路の表面近傍の光学的特性を測定する方法を採用している。

【0022】請求項15の光学的測定方法は、上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質として、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子を採用する方法である。請求項16の光学的測定方法は、上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質として、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を採用する方法である。

【0023】

【作用】請求項1の光学的測定装置であれば、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を全反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子を添加してあるので、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面において散乱された励起光により励起される蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定のS/N比を高めることができる。

【0024】請求項2の光学的測定装置であれば、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を全反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を含有させてあるので、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面において散乱された励起光により励起される蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定のS/N比を高めることができる。

【0025】請求項3の光学的測定装置であれば、蛍光物質を含む試薬と測定対象溶液とを収容して所定の反応を行なわせる反応槽を構成するケーシングの一部が光導波路で構成されているとともに、光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、光導波路に対して所定の相対角度で出射される

成分を受光して反応槽内における光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質を添加してあるので、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が放射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0026】請求項4の光学的測定装置であれば、光導波路を通して反応槽に導入されるように励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する物質を添加してあるので、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が光導波路を通して導入される励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。また、励起光と蛍光とを分離するための光学素子を用いる必要がないので、光学系の構成を簡単化できる。

【0027】請求項5の光学的測定装置であれば、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入することにより生じるエバネッセント波成分によって光導波路の表面近傍に拘束された蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する物質を添加してあるので、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。また、励起光と蛍光とを分離するための光学素子を用いる必要がないので、光学系の構成を簡単化できる。

【0028】請求項6の光学的測定装置であれば、光導波路を所定角度を通して反応槽に導入されるように励起光を照射して蛍光物質を励起し、蛍光物質が放射する蛍光のうち、励起光と異なる所定角度で光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する物質を添加してあるので、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が光導波路を通して導入

される励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。また、励起光と蛍光とを分離するための光学素子を用いる必要がないので、光学系の構成を簡単化できる。

【0029】請求項7の光学的測定装置であれば、蛍光物質を含む試薬と測定対象溶液とを収容して所定の反応を行なわせる反応槽を構成するケーシングの一部が光導波路で構成されているとともに、光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子を含有させてあるので、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が光導波路を通して導入される励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0030】請求項8の光学的測定装置であれば、蛍光物質を含む試薬と測定対象溶液とを収容して所定の反応を行なわせる反応槽を構成するケーシングの一部が光導波路で構成されているとともに、光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における光導波路の表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を含有させてあるので、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0031】請求項9の光学的測定装置であれば、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽の内部において、上記光導波路の上記表面に固相化されたりガンドと上記反応槽に注入された測定対象溶液と、蛍光物質で標識され、かつ上記反応槽に注入されたりガンドを含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長

の光を吸収する性質を有する微粒子を含有させた状態で、上記光導波路内を反射しながら伝播する成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定するのであるから、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面において散乱された励起光により励起される蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0032】請求項10の光学的測定方法であれば、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽の内部において、上記光導波路の上記表面に固相化されたりガンドと上記反応槽に注入された測定対象溶液と、蛍光物質で標識され、かつ上記反応槽に注入されたりガンドを含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する光学的測定方法であって、上記反応槽内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する水溶性色素を含有させた状態で、上記光導波路内を反射しながら伝播する成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定するのであるから、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面において散乱された励起光により励起される蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定のS/N比を高めることができる。

【0033】請求項11の光学的測定方法であれば、光導波路の表面を1の区画面とする反応槽の内部において、上記光導波路の上記表面に固相化されたりガンドと上記反応槽に注入された測定対象溶液と、蛍光物質で標識され、かつ上記反応槽に注入されたりガンドを含む試薬とで所定の反応を行なわせ、上記光導波路に対して所定の相対角度で励起光を照射し、蛍光物質に起因する蛍光のうち、上記光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定するに当って、上記反応槽内に、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質を含有させた状態で、上記光導波路に対して所定の相対角度で出射される成分を受光して反応槽内における上記光導波路の上記表面近傍の光学的特性を測定するのであるから、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が出射されることを防止することができ、ひいては光学的

測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0034】請求項12の光学的測定方法であれば、上記光学的測定方法として、光導波路を通して反応槽に導入されるように励起光を照射するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路内を反射しながら伝播する成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する方法を採用するのであるから、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が光導波路を通して導入される励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0035】請求項13の光学的測定方法であれば、上記光学的測定方法として、光導波路内を全反射しながら伝播するように励起光を導入するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する方法を採用するのであるから、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0036】請求項14の光学的測定方法であれば、上記光学的測定方法として、光導波路を所定角度を通して反応槽に導入されるように励起光を照射するとともに、蛍光物質が放射する蛍光のうち、励起光と異なる所定角度で光導波路を通して外部に放射される成分に基づいて光導波路の表面近傍の光学的特性を測定する方法を採用するのであるから、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が光導波路を通して導入される励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0037】請求項15の光学的測定方法であれば、上記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質として、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する微粒子を採用するのであるから、光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が光導波路を通して導入される励起光により励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0038】請求項16の光学的測定方法であれば、上

記蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質として、蛍光物質の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する水溶性色素を採用するのであるから、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができる。

【0039】

【実施例】以下、実施例を示す添付図面によって詳細に説明する。図1はこの発明の光学的測定装置の一実施例を示す概略縦断面図であり、一端部に励起光導入用のプリズム1aが一体形成されたスラブ型光導波路1の一侧に反応槽2が一体形成されてあるとともに、スラブ型光導波路1の上記一侧に多数の抗体3が固定されてある。また、励起光導入用のプリズム1aを通して導入される励起光の光路と、プリズム1aを通して出射される蛍光の光路とを分離するダイクロイックミラー4、励起光光源5、および光電子増倍管等からなる受光素子6等がスラブ型光導波路1に対して所定の相対位置に配置されている。

【0040】上記の構成の光学的測定装置を用いて蛍光免疫測定を行なう場合には、励起光光源5を動作させた状態においてまず測定対象溶液を反応槽2に収容して、測定対象溶液中の抗原7との間で抗原抗体反応を行なわせ、次いで、反応槽2から測定対象溶液を排出して、蛍光色素8aで標識された標識抗体8を含み、かつ粒径約200nmのカーボンブラック微粒子の分散体9{0.04%(w/v)}を添加してなる試薬溶液を反応槽2に収容することにより、抗原抗体反応を行なった抗原7との間で抗原抗体反応を行なわせ、測定対象溶液中の抗原7の濃度に対応する量の標識抗体8をスラブ型光導波路1の一侧近傍に拘束する。この一連の処理を行なっている間、励起光に起因するエバネッセント波成分が生じているのみならず、スラブ型光導波路1の表面において励起光が散乱されている。しかし、試薬溶液にはカーボンブラック微粒子の分散体9が添加されているのであるから、励起光散乱成分、スラブ型光導波路1の表面近傍に拘束されていない標識抗体8の蛍光色素8aが放射する蛍光(以下、試薬迷光と称する)が効果的に吸光され、光学的免疫測定のス/N比を著しく高めることができる。図2はカーボンブラック微粒子の分散体の濃度に対するエンドポイント信号およびオフセット信号の変化を示す図であり、aがエンドポイント信号を、bがオフセット信号をそれぞれ示している。但し、カーボンブラックの濃度は、31.5%(w/v)のカーボンブラック微粒子を含む吸光剤に対する希釈倍率で表示してある。図2から明らかなように、エンドポイント信号の減

少が著しくなだらかであるのに対して、オフセット信号の減少が著しく急峻であることが分る。即ち、カーボンブラック微粒子の分散体を添加するだけの簡単な処理で、蛍光免疫測定のス/N比を著しく高めることができる。尚、エンドポイント信号の低下が10%以内であり、しかもオフセット信号が低下している範囲を有効範囲と定めれば、カーボンブラック微粒子を含む吸光剤の希釈倍率は $10^{-4} \sim 10^{-2}$ になる。これをカーボンブラック微粒子の濃度に換算すると、ほぼ0.004~0.3%になる。また、カーボンブラック微粒子の分散体を添加した場合、添加しない場合のそれぞれに対応する蛍光免疫測定信号の経時変化を図3に示す。尚、図3中aが前者の場合を、bが後者の場合をそれぞれ示している。

10

20

【0041】図3から明らかなように、カーボンブラック微粒子を添加していない場合には、bに示すように信号が大きくなるだけでなく、試薬迷光も大きくなる。これに対して、カーボンブラック微粒子を添加した場合には、aに示すように信号がやや小さくなるが、試薬迷光が著しく小さくなるので、S/N比を著しく高めることができる。

【0042】尚、カーボンブラック微粒子に代えて、プラチナ、金等の金属の微粒子、ポリスチレン微粒子等を採用することも可能であり、同様の効果を達成することができる。

【0043】

【実施例2】図1の構成の光学的測定装置を用い、励起光光源5として励起波長が633nmのHe-Neレーザを用い、標識抗体およびシアン1P(日本化薬株式会社製)を添加してなる試薬溶液を用いて蛍光免疫測定を行なった。また、標識抗体のみを添加した試薬溶液、シアン1Pに代えてBlue50p(日本化薬株式会社製)を添加してなる試薬溶液をそれぞれ用いて蛍光免疫測定を行なった。

【0044】この結果、標識抗体のみを添加した試薬溶液を用いた場合における試薬迷光が61.1であったのに対し、シアン1Pを添加した場合には、試薬迷光が36.0になり、著しい試薬迷光低減効果を達成することができた。これに対して、図4中bで示すように、上記励起波長633nmの光を吸光しないBlue50pを添加した場合には試薬迷光が497であった。試薬迷光が著しく大きくなったのは、Blue50pが励起光の散乱を助長したためであると思われる。尚、図4中aはシアン1Pの吸光特性を示しており、波長633nmの光に対してかなり高い吸光度を有していることが分る。

【0045】また、標識抗体のみを添加した場合、シアン1Pをも添加した場合のそれぞれに対応する蛍光免疫測定信号の経時変化を図5に示す。図5から明らかなように、標識抗体のみを添加した場合には、bに示すように信号が大きくなるだけでなく、試薬迷光も大きくな

る。これに対して、シアン 1 P をも添加した場合には、a に示すように信号がやや小さくなるが、試薬迷光が著しく小さくなるので、S/N 比を著しく高めることができる。

【0046】以上には、励起光波長に対する吸光度が高い水溶性色素を添加した場合について説明したが、蛍光色素が放射する蛍光の波長に対する吸光度が高い水溶性色素を採用することが可能であるほか、励起光波長に対する吸光度および蛍光色素が放射する蛍光の波長に対する吸光度が高い水溶性色素を採用することが可能であり、その他、この発明の要旨を変更しない範囲内において種々の設計変更を施すことが可能である。

【0047】

【実施例 3】図 6 はこの発明の光学的測定装置の他の実施例を模式的に示す縦断面図であり、一端部に信号光導出用のプリズム 11a が一体形成されたスラブ型光導波路 11 の一側に反応槽 12 が一体形成されてあるとともに、スラブ型光導波路 11 の上記一側に多数の抗体 13 が固定されてある。また、信号光導出用のプリズム 11a を通して導出される信号光を図示しないシャープカットフィルタ等を介して光電子増倍管からなる受光素子 16 に導いている。さらに、レーザ光源等からなる励起光光源 15 からの出射光をコリメータレンズ 14a、ニュートラルデンシティフィルタ（以下、ND フィルタと略称する）14b 等を通して上記スラブ型光導波路 11 の、上記一側と対向する他側に平面波として照射し、スラブ型光導波路 11 を厚み方向に通して反応槽 12 に導入している。また、上記励起光光源 15 は、図示しない温度制御部によってその温度が制御され、ひいては出射光強度の変動が防止されている。さらに、上記スラブ型光導波路 11 および反応槽 12 は、励起光の光軸（またはこの光軸と平行な軸）と交差せず、しかも信号光の光軸（またはこの光軸と平行な軸）とも交差しない面（図 6 において紙面に垂直な方向の面、以下、単に側面と称する）に黒色の塗料等が塗布されている。したがって、上記側面から光が出射することを未然に防止し、仮に光が出射したと仮定した場合に、出射した光が種々の経路を経て受光素子 16 により受光される可能性があるの

で、このような光が受光素子 16 に入射することを未然に防止する。もちろん、上記側面を通して外部から光が入射することも防止できる。

【0048】上記の構成の光学的測定装置を用いて蛍光免疫測定を行なう場合には、励起光光源 15 を動作させた状態において先ず測定対象溶液を反応槽 12 に収容して、測定対象溶液中の抗原 17 とスラブ型光導波路 11 に固定されている抗体 13 との間で抗原抗体反応を行なわせ、次いで、反応槽 12 から測定対象溶液を排出して、蛍光色素 18a で標識された標識抗体 18 を含み、かつ、所望の粒径のカーボンブラック微粒子 19（所望の濃度）を添加してなる試薬溶液を反応槽 12 に収容す

ることにより、抗原抗体反応を行なった抗原 17 との間で抗原抗体反応を行なわせ、測定対象溶液中の抗原 17 の濃度に対応する量の標識抗体 18 をスラブ型光導波路 11 の一側近傍に拘束する。この一連の処理を行なっている間、励起光に起因する平面波はスラブ型光導波路 11 を厚み方向に通して反応槽 12 内に導入されている。しかし、試薬溶液にはカーボンブラック微粒子 19 が添加されているのであるから、上記平面波が反応槽 12 の内部において早期に効果的に吸光され、スラブ型光導波路 11 の表面から離れた位置における標識抗体 18 の蛍光色素 18a を励起するという不都合を大幅に低減することができる。また、仮に、スラブ型光導波路 11 の表面から離れた位置における標識抗体 18 の蛍光色素 18a が蛍光を放射しても、この蛍光が効果的に吸光され、スラブ型光導波路 11 内を伝播する信号光に混入される可能性を大幅に低減することができる。したがって、光学的免疫測定感度（S/N 比）を著しく高めることができる。

【0049】上記の構成の光学的測定装置において、スラブ型光導波路 11 の上記一側に多数の抗体 13 を固定する代わりに、ブロッキング剤として、ミルクプロテイン原液とアジ化ナトリウム（ NaN_3 ；0.02%）とを混合したものをコーティングしてなるものを用い、カーボンブラック微粒子 19（希釈液で希釈して 1 重量% に設定したもの）が添加された試薬 { CMI (Carb oxymethylindocyanine) - IgG (Immunoglobulin - G), $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ }、カーボンブラック微粒子 19 が添加されていない試薬 (CMI - IgG, $4 \mu\text{g}/\text{ml}$) を $400 \mu\text{l}$ 注入して、注入前後の出力光強度を測定した。また、上記の構成のスラブ型光導波路 11 の信号光導出面に近接する面に迷光遮光のために、黒色の塗料等を塗布してなるものを用い、カーボンブラック微粒子 19（希釈液で希釈して 1 重量% に設定したもの）が添加された試薬 (CMI - IgG, $4 \mu\text{g}/\text{ml}$)、カーボンブラック微粒子 19 が添加されていない試薬 (CMI - IgG, $4 \mu\text{g}/\text{ml}$) を $400 \mu\text{l}$ 注入して、注入前後の出力光強度を測定した。尚、この測定に当たっては、励起光光源 15 としてレーザ光源を用い、出力を 3 mW に設定し、ND フィルタにより 10% カットし、 $3 \times 10 \text{ mm}$ の平面波をスラブ型光導波路 11 の下部から照射した。

【0050】上記測定の結果、カーボンブラック微粒子 19 を添加していない試薬を用い、スラブ型光導波路 11 に迷光遮光のための黒色の塗料等を塗布していない場合には、試薬注入前後の信号値（光電子増倍管の出力パルス数であり、出力光強度に対応する）は、 $0.2397 \text{ kilo pulse per second}$ （以下、kpps と略称する）、 140.2016 kpps であり、カーボンブラック微粒子 19 を添加していない試薬を用い、スラブ型光導波路 11 に迷光遮光のための

黒色の塗料等を塗布した場合には、試薬注入前後の信号値は、 0.2234 kpps 、 42.4969 kpps であった。また、カーボンブラック微粒子19を添加した試薬を用い、スラブ型光導波路11に迷光遮光のための黒色の塗料等を塗布していない場合には、試薬注入前後の出力光強度は、 0.2717 kpps 、 0.2563 kpps であり、カーボンブラック微粒子19を添加した試薬を用い、スラブ型光導波路11に迷光遮光のための黒色の塗料等を塗布した場合には、試薬注入前後の信号値は、 0.2048 kpps 、 0.2076 kpps であった。

【0051】これらの測定においては、ブロッキング剤としてのミルクプロテイン（アジ化ナトリウム0.02%混合）がスラブ型光導波路11の表面にコーティングされている関係上、スラブ型光導波路11の表面近傍には試薬が存在していないことになる。また、試薬注入前の出力光はスラブ型光導波路11自体の蛍光によるオフセット値であり、何れの場合にもほぼ同様の信号値が得られている。しかし、試薬注入後においては、カーボンブラック微粒子19、迷光遮光用の黒色塗料等の塗布の何れも適用されていない場合に最も大きい信号値が得られ、迷光遮光用の黒色塗料等の塗布のみが適用された場合に次に大きい信号値が得られ、カーボンブラック微粒子19が適用された場合に試薬注入前とほぼ等しい信号値が得られている。この結果から明らかなように、前2者の場合には試薬迷光がかなり検出されているのに対して、後2者の場合には試薬迷光を十分に低減できていることが分る。尚、試薬注入後の信号値が試薬注入前の信号値よりも僅かながら小さくなっているのは、試薬注入による屈折率の変化の影響である。

【0052】さらに、ミルクプロテインのコーティング（アジ化ナトリウム0.02%混合）を省略した他は上記と同じ構成のスラブ型光導波路（迷光遮光用の黒色塗料等の塗布を行っていないもの）を採用して、反応槽12に1重量%の濃度の着色試薬インクを $200\mu\text{l}$ 注入し、注入前後の信号値を測定したところ、 0.080 kpps 、 1.600 kpps であった。この場合には、スラブ型光導波路11の表面にブロッキング剤としてのミルクプロテイン（アジ化ナトリウム0.02%混合）がコーティングされていない関係上、スラブ型光導波路11の表面近傍の励起領域に試薬が存在することとなるので、実際の免疫反応による信号成分は十分に取り出せると推察できる。また、上記の測定における着色試薬インク注入前の信号値よりも、ミルクプロテイン（アジ化ナトリウム0.02%混合）をブロッキング剤としてスラブ型光導波路11の表面にコーティングを施した状態で測定を行なった前記4者の試薬注入前の信号値が大きいのは、ブロッキング剤としてのミルクプロテイン（アジ化ナトリウム0.02%混合）がスラブ型光導波路11の表面にコーティングされているためであると思

われる。

【0053】尚、この実施例においては、スラブ型光導波路11の下面から反応槽12内に励起光を導入し、スラブ型光導波路11内を伝播させ、プリズム11aを通して信号光を出射するようにしているが、図7に示すように、プリズム11aを通してスラブ型光導波路11内に励起光を導入して伝播させ、スラブ型光導波路11を通してスラブ型光導波路11の下面から出射する信号光を受光素子16により受光させること、図8に示すように、スラブ型光導波路11の下面に対して所定の角度で励起光を照射して反応槽12内に励起光を導入し、スラブ型光導波路11の下面に対して、励起光のなす角度と異なる角度でスラブ型光導波路11の下面から出射する信号光を受光素子16により受光させることが可能である。

【0054】また、図6～図8の光学的測定装置において、カーボンブラック微粒子に代えて、プラチナ、金等の金属の微粒子、ポリスチレン微粒子等を採用することが可能であり、さらに、カーボンブラック微粒子に代えて、励起光波長に対する吸光度が高い水溶性色素、蛍光色素が放射する蛍光に対する吸光度が高い水溶性色素、上記両光に対する吸光度が高い水溶性色素を採用することも可能である。

【0055】

【実施例4】図9はこの発明の光学的測定方法の一実施例を説明するフローチャートであり、上記実施例の何れかに記載された光学的測定装置を用いて光学的測定を行なう場合を示している。したがって、反応槽2,12の一区画面を構成するスラブ型光導波路1,11の表面

に、例えば抗体3,13が予め固定化されている。

【0056】免疫測定の開始が指示された場合に、ステップSP1において、反応槽2,12内に、分注ノズル32a（図10参照）を用いて測定対象溶液を注入して、上記予め固定化されている抗体3,13と測定対象溶液中の抗原7,17との間で抗原抗体反応を行なわせる。上記抗原抗体反応を所定時間行なわせた後、ステップSP2において、分注ノズル32aを用いて反応槽2,12から測定対象溶液を除去し、ステップSP3において、所望の濃度の吸光性物質（蛍光色素の励起波長、発光波長の少なくとも一方の波長の光を吸収する性質を有する物質）を含有させてなる試薬を、分注ノズル32aを用いて反応槽2,12に注入して、既に抗原抗体反応を行なってスラブ型光導波路1,11の表面近傍に拘束された抗原7,17と試薬中の標識抗体8,18との間で抗原抗体反応を行なわせる。また、ステップSP4において、抗原抗体反応によりスラブ型光導波路1,11の表面近傍に拘束された標識抗体8,18の蛍光色素8a,18aから放射される蛍光のうち、適用される光学的測定装置により定まる蛍光成分を受光素子6,16により受光して測定対象溶液中の抗原7,17

の濃度に対応すべき信号を得、ステップSP5において、得られた信号と予め得られている検量線とに基づいて測定対象溶液中の抗原7, 17の濃度を得、そのまま一連の処理を終了する。

【0057】尚、ステップSP3の処理とステップSP4の処理とは同時に行なわれるのであるが、ステップSP4の処理をステップSP3の処理よりも先に開始することが好ましく、スラブ型光導波路1, 11に起因するオフセットノイズを、図示しない後のデータ処理により得ることができる。また、ステップSP4において得られる信号としては、抗原抗体反応の進行により変化する信号値がほぼ飽和するまで待ち、ほぼ飽和した時点における信号値を得るようにしてもよいが、抗原抗体反応の進行により変化する信号の時間微分値を算出し続け、時間微分値の最大値を採用するようにしてもよい。

【0058】また、図10は図9のフローチャートが適用される光学的測定装置の概略構成を示すブロック図であり、図示しない試薬収容槽、図示しない測定対象溶液収容槽、図示しない希釈液収容槽および抗原抗体反応を行なわせる反応槽12を備え、抗体13が固定されたスラブ型光導波路11が反応槽12の所定面に形成されている測定用セル31と、何れかの槽に溶液を注入し、または何れかの槽から溶液を吸引して除去するための分注ノズル32aを備えた分注装置32と、測定用セル31に対して所定位置に配置され、スラブ型光導波路11に対して所定角度で励起光を照射するとともに、スラブ型光導波路11から所定角度で出射される信号光を検出することにより免疫反応の程度を検出する光学的測定部33と、使用者からの指示が入力される指示部34と、検査対象、測定項目、測定数等の条件に対応して所定のデータを保持するデータ部35と、指示部34およびデータ部35の情報に基づいて分注ノズル32aの吸引、吐出および吸引量、吐出量を制御する分注コントローラ部36と、光学的測定部33および分注コントローラ部36に指令を送るメインコントローラ部37とを有している。

【0059】この光学的測定装置においては、図9のフローチャートの各ステップに対応してメインコントローラ部37が対応するデータをデータ部35から読み出し、読み出されたデータおよび使用者の指示に基づいて分注コントローラ部36を動作させ、分注ノズル32aを制御する。即ち、分注ノズル32aにより測定対象溶液収容槽から測定対象溶液を吸引し、分注ノズル32aを反応槽12まで移動させて、吸引した測定対象溶液を反応槽12に吐出することにより第1回目の抗原抗体反応を行なわせる。但し、測定対象溶液を希釈する必要がある場合には、測定対象溶液を吸引する前、または後に、希釈液収容槽から希釈液を吸引する。その後、分注ノズル32aにより反応槽12内の測定対象溶液を吸引して図示しない廃液タンクに吐出する。次いで、分注ノ

ズル32aにより試薬収容槽から標識抗体18およびカーボンブラックの微粒子19を含む試薬を吸引し、分注ノズル32aを反応槽12まで移動させて、吸引した試薬を反応槽12に吐出することにより第2回目の抗原抗体反応を行なわせる。尚、これらの場合において液体吸引量の調節は、例えば、分注ノズル32aの吸引量、吐出量を制御するパルスモータ（図示せず）に与える単位時間当りのパルス数を、分注コントローラ部36により吸引量に対応する最適値に設定することにより達成される。また、試薬、測定対象溶液をこの順に吸引し、測定対象溶液、試薬の順に吐出させることも可能であり、この場合には、試薬と測定対象溶液との間にエアギャップを形成することにより、分注ノズル32a内における両液の混合を防止することができる。

【0060】したがって、光学的免疫測定を行なう状態において、反応槽2, 12内には必ず光吸収性物質が含有されているのであるから、上述の実施例からも明らかのように、試薬迷光を十分に低減して、光学的免疫測定感度(S/N比)を著しく高めることができる。尚、この実施例においては、反応槽2, 12内に測定対象溶液を注入して第1回目の抗原抗体反応を行なわせ、次いで、測定対象溶液を除去した後に上記試薬を注入して第2回目の抗原抗体反応を行なわせる、いわゆる2ステップ法を採用しているが、予め測定対象溶液と上記試薬とを混合しておくことにより抗原抗体反応を行なわせ、この混合溶液を反応槽2, 12に注入することにより、スラブ型光導波路1, 11の表面に固定化された抗体3, 13との間で抗原抗体反応を行なわせる、いわゆる1ステップ法を採用することが可能である。

【0061】さらに、以上の何れの実施例においても、光吸収性物質が予め試薬に含有されている場合について説明しているが、試薬注入前、または試薬注入後に光吸収性物質を反応槽に注入することが可能である。

【0062】

【発明の効果】以上のように請求項1の発明は、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面において散乱された励起光により励起される蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定のS/N比を高めることができるという特有の効果奏する。

【0063】請求項2の発明は、光導波路の表面において励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面において散乱された励起光により励起される蛍光物質が放射する蛍光が光導波路に導入されることを防止することができ、ひいては光学的測定のS/N比を高めることができるという特有の効果奏する。

いて励起光が散乱されることにより光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が励起されること、および/または光導波路の表面近傍には拘束されていない蛍光物質が放射する蛍光が光導波路を通して出射されることを防止することができ、ひいては光学的測定感度(S/N比)を高めることができるという特有の効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】この発明の光学的測定装置の一実施例を示す概略縦断面図である。

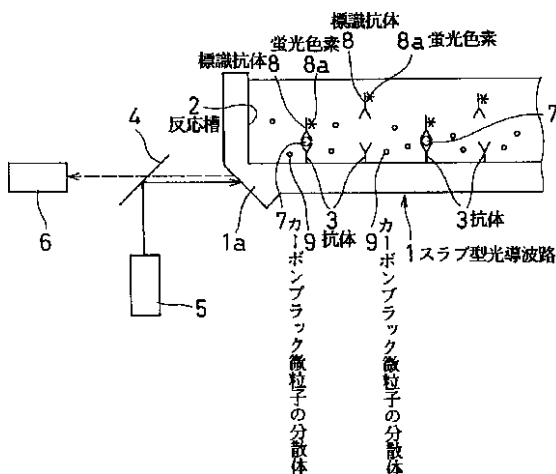
【図2】カーボンブラック微粒子の分散体の濃度に対するエンドポイント信号およびオフセット信号の変化を示す図である。

【図3】蛍光免疫測定信号の経時変化を示す図である。

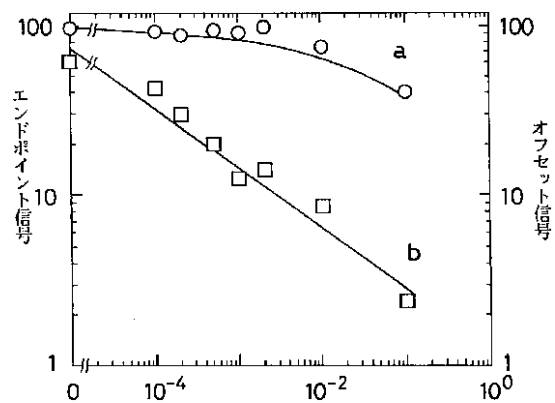
【図4】シアン1PとBlue 50pの吸光度の波長依存性を示す図である。

【図5】蛍光免疫測定信号の経時変化を示す図である。*

【図1】

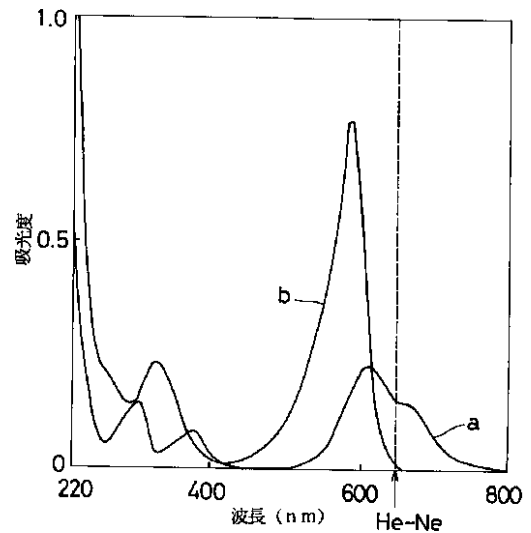
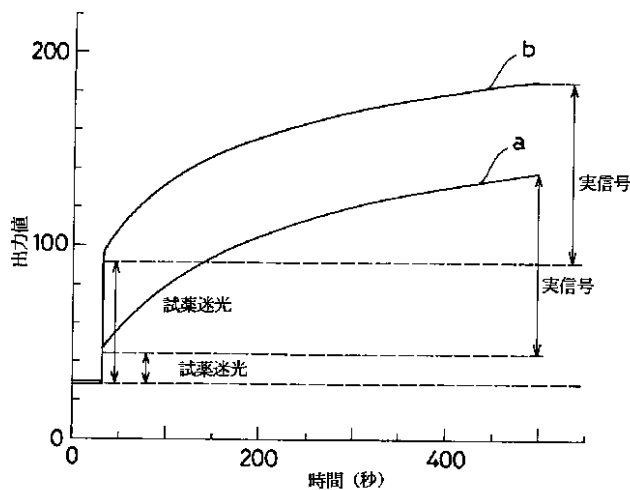


【図2】



【図4】

【図3】



* 【図6】この発明の光学的測定装置の他の実施例を模式的に示す縦断面図である。

【図7】この発明の光学的測定装置のさらに他の実施例を模式的に示す縦断面図である。

【図8】この発明の光学的測定装置のさらに他の実施例を模式的に示す縦断面図である。

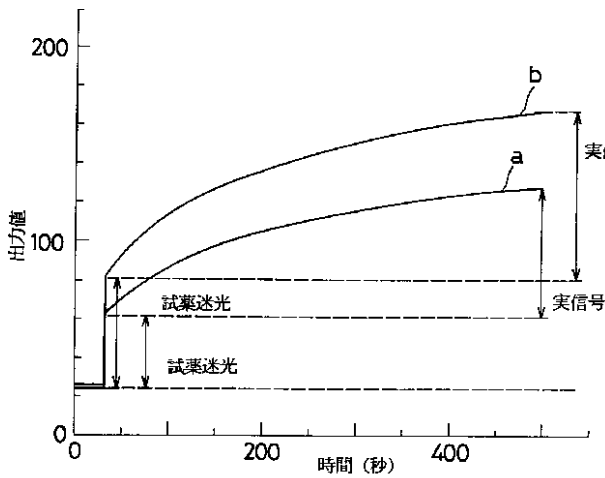
【図9】この発明の光学的測定方法の一実施例を説明するフローチャートである。

【図10】図9のフローチャートが適用される光学的測定装置の概略構成を示すブロック図である。

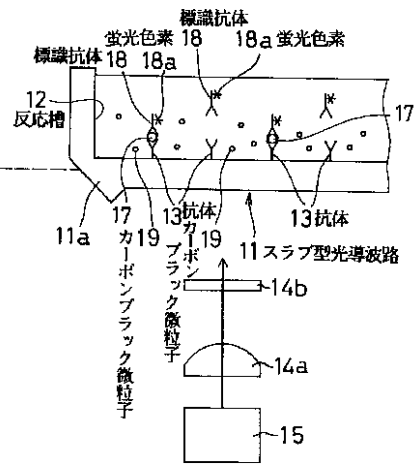
【符号の説明】

- 1, 11 スラブ型光導波路
- 2, 12 反応槽
- 3, 13 抗体
- 8, 18 標識抗体
- 8a, 18a 蛍光色素
- 9 カarbonブラック微粒子の分散体
- 19 カarbonブラック微粒子

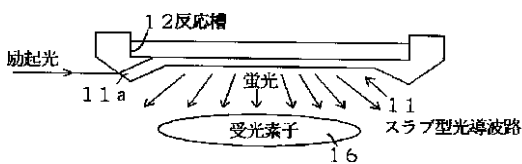
【図 5】



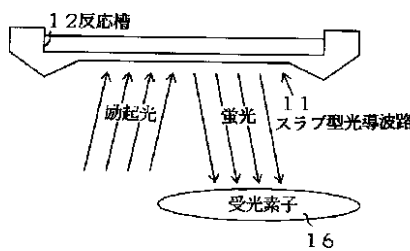
【図 6】



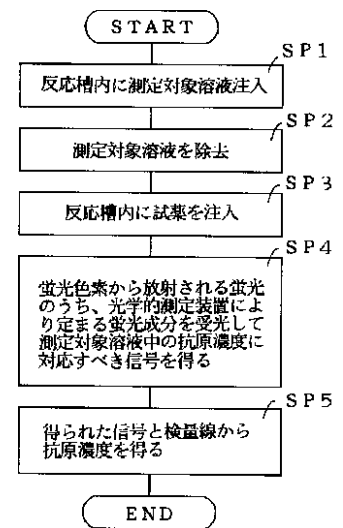
【図 7】



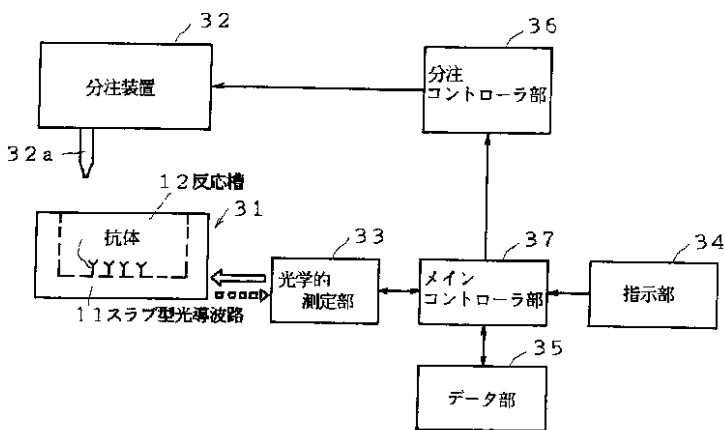
【図 8】



【図 9】



【図 10】



フロントページの続き

(72)発明者 増田 堅司
 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2
 ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内

(72)発明者 吉田 雅一
 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2
 ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内

(72)発明者 阪本 知己
 滋賀県草津市岡本町字大谷1000番地の2
 ダイキン工業株式会社 滋賀製作所内

(56)参考文献 特開 平6 - 123739 (JP, A)
特開 平6 - 117997 (JP, A)
特開 平6 - 213892 (JP, A)
特表 昭61 - 502418 (JP, A)
特表 平5 - 503584 (JP, A)
特表 昭59 - 501873 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
G01N 21/00 - 21/74
G01N 33/543 595
JICSTファイル(JOIS)