

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 10 月 4 日(04.10.2012)



(10) 国際公開番号
WO 2012/132964 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/27 (2006.01) *G01N 21/59* (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01) *G01N 33/532* (2006.01)
B82Y 15/00 (2011.01) *G01N 33/542* (2006.01)
G01N 21/21 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/056882
- (22) 国際出願日: 2012 年 3 月 16 日(16.03.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2011-079280 2011 年 3 月 31 日(31.03.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 富士
フィルム株式会社 (FUJIFILM Corporation) [JP/JP];
〒1068620 東京都港区西麻布 2 丁目 2 6 番 3 0
号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 木村 俊仁
(KIMURA Toshihito) [JP/JP]; 〒2588538 神奈川県足
柄上郡開成町宮台 7 9 8 番地 富士フィルム株
式会社内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 小田原 修一, 外(ODAHARA Shuichi et
al.); 〒2500111 神奈川県南足柄市竹松 1 2 5 0 番
地 F F T P M O 棟 6 F Kanagawa (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT,
LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA,
RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV,
SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,
VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシ
ア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ユー
ロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: BIOMOLECULE DETECTION DEVICE AND BIOMOLECULE DETECTION METHOD

(54) 発明の名称: 生体分子検出装置および生体分子検出方法

[図10]

FIG.10A

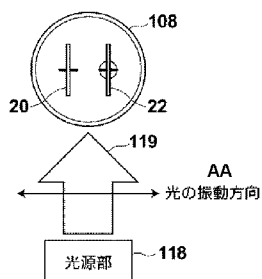
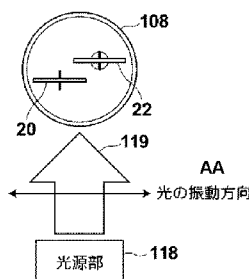


FIG.10B



118 Light source unit
AA Light oscillation direction

(57) Abstract: Provided is a biomolecule detection device capable of highly sensitive measurement. The biomolecule detection device has a configuration whereby the orientation directions of free molecules and binding molecules in a solution can be switched and the amount that light is reduced by nanorods associated with the free molecules (20) and the binding molecules (22) can be changed, by switching the irradiation direction of an orientation-controlling light. In addition, the timing at which the light reduction amount changes for the free molecules (20) and the binding molecules (22) is different for each, because there is a difference between the amount of time required by each to switch orientation direction when the irradiation direction of the orientation-controlling light (117) is switched. Accordingly, the amount that the nanorods associated with the free molecules (20) and the binding molecules (22) respectively contribute to the amount of light reduction can be calculated from the amount of light reduction for the whole solution, and the concentration of the target detection substance can be accurately measured using a simple configuration.

(57) 要約:

[続葉有]



添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

高感度な測定が可能な生体分子検出装置を提供する。配向制御光の照射方向の切り替えにより、溶液中のフリー分子およびバインディング分子の配向方向を切り替え、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 に付随するナノロッドによる減光量を変化させることが可能な構成とした。また、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 は、配向制御光 117 の照射方向の切り替えに伴う配向方向の切り替えに要する時間に差が生じるため、それぞれの分子による減光量が増減するタイミングが異なる。従って、溶液全体の減光量からフリー分子 20 およびバインディング分子 22 それぞれに付随したナノロッドによる減光量への寄与分を算出することができ、簡便な構成で検出対象物質の濃度を正確に測定することができる。

明 細 書

発明の名称： 生体分子検出装置および生体分子検出方法

技術分野

[0001] 本発明は、溶液中の検出対象物質を検出する技術に係り、特に、血液や尿等の検体内の生体分子、ウイルス、DNA、蛋白質、細菌等を検出することが可能な生体分子検出装置および生体分子検出方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、医師や技師等が診療の現場で生体分子検出を行い、その場で測定結果を得て診断や治療に役立てる生体分子検出法が注目されている。生体分子検出法は、抗原抗体反応等の特異的な反応を利用した高い選択性により、血液、尿、汗といった複数成分を有する体液の中から、検出対象物質だけを選択的に検出する方法である。特に、ウイルス、DNA、蛋白質、細菌等の生体分子の微量検出、検査、定量、分析などに広く用いられている。

[0003] 近年、生体分子を高感度に検出する方法として、金属微粒子のプラズモンと光の相互作用を利用したプラズモンセンサの研究が進められている。

[0004] 特許文献1には、基板に固定した金属微粒子（金ナノロッド）の局在表面プラズモン共鳴の吸収波長が特異的結合によりシフトする現象をセンシング技術に応用した分析チップが開示されている。

[0005] 特許文献2には、金ナノロッドを配向させて基板に固定することにより、検出感度を向上させる検知素子が開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特開2009-265062号公報

特許文献2：特開2007-248284号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] しかしながら、特許文献1および特許文献2のような金属微粒子を固定し

た基板を利用した検知素子は、金属微粒子を固定する際の加工コストが高いという問題がある。

[0008] 本発明は上記事情に鑑みてなされたものであり、金属微粒子を基板に固定することなく高感度で測定可能な生体分子検出装置および生体分子検出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

[0009] 上記目的を達成するために、本発明に係る生体分子検出装置は、特定の生体分子に特異的に結合し得る物質と光吸収特性に異方性を示す検出用標識とを有する第1の複合体、および上記生体分子が上記物質を介して上記第1の複合体に特異的に結合した第2の複合体、が含まれる溶液中において、上記第1の複合体および上記第2の複合体を少なくとも2つの方向へ配向させる配向制御手段と、特定方向の直線偏光成分を有する第1の光を上記溶液に照射する第1の光源と、上記溶液による上記第1の光の減光量を測定する検出手段と、上記検出手段により測定した光の減光量に基づいて上記生体分子を検出または定量する演算手段と、を具備し、上記第1の光は、上記第1の複合体および上記第2の複合体の配向方向の変化により、上記検出用標識による減光量に変化が生じる波長の光であることを特徴とする。

[0010] ここで、第1の複合体とは、実施の形態1においてはフリー分子を意味する。第2の複合体とは、実施の形態1においてはバインディング分子を意味する。

[0011] ここで、光吸収特性に異方性を示す検出用標識とは、光の振動方向に対する向きが変化することで、光の減光量が変わるものであり、具体的には金属ナノロッドやカーボンナノチューブなどが挙げられる。金属ナノロッドは、例えば金ナノロッドを用いることができる。

[0012] また、減光量とは、吸収される光の量と散乱される光の量との双方の寄与からなる。本発明においては、減光量として吸光度を測定しても良いし散乱光を測定しても良い。また、減光量として吸光度と散乱光との双方を測定しても良い。

- [0013] このような構成にすると、簡便な構成で検出対象物質を高感度に測定することができる。また、上記第1の複合体および上記第2の複合体が固定されていないため、溶液中での反応が早い。
- [0014] また、上記第1の光は、上記配向制御手段による上記第1の複合体および上記第2の複合体の配向方向の変化により、上記検出用標識と上記特定方向の直線偏光成分との向きの関係が変化して上記検出用標識による減光量に変化が生じる光であることが好ましい。
- [0015] 上記配向制御手段は、第2の光を上記溶液に照射する第2の光源と、上記第2の光の照射方向を切り替えることにより、上記第1の複合体および上記第2の複合体を上記溶液中で少なくとも2つの方向へ配向させる切替手段と、を具備することが好ましい。
- [0016] 配向制御手段が光を用いて第1の複合体および第2の複合体を配向させると、第1の複合体および第2の複合体に対して配向のための前処理が不要となる。例えば、磁気を用いて配向制御を行う場合には、第1の複合体および第2の複合体に磁性粒子等を結合させる必要があるが、光を用いて配向させると、そのような前処理が不要である。
- [0017] また、上記配向制御手段は、直線偏光した第3の光を上記溶液に照射する第3の光源と、上記第3の光の偏光軸を回動させることにより、上記第1の複合体および上記第2の複合体を上記溶液中で少なくとも2つの方向へ配向させる偏光軸回動手段と、を具備するようにしてもよい。
- [0018] このようにして第1の複合体および第2の複合体を配向させると、光の照射方向を切り替えて配向を切り替える場合のように複数の方向から光を照射する必要がないため、配向制御手段の光学系を小さくすることができる。
- [0019] また、上記演算手段は、上記配向制御手段によって配向される上記第1の複合体および上記第2の複合体による減光量の時間変化に差があることを利用して上記第1の複合体による減光量成分と上記第2の複合体による減光量成分とを分離し、上記生体分子を検出または定量することが好ましい。
- [0020] 上記第1の複合体と上記第2の複合体とは、溶液中での運動し易さに差が

あり、減光量の時間変化に差がある。演算手段は、この時間変化の差を利用することで、上記第1の複合体による減光量と、上記第2の複合体による減光量とを分離することができ、上記生体分子を検出することができる。

[0021] また、上記検出用標識は金属ナノロッドであることが好ましい。金属ナノロッドは、配向方向の切り替えに伴って減光量に大きな変化が表れる。そのため、高精度に検出を行うことができる。

[0022] 上記配向制御手段は、上記ナノロッドの長軸方向と上記第1の光源から照射される光の振動方向とが平行となる第1の方向、および、上記ナノロッドの長軸方向と上記第1の光源から照射される光の振動方向とが垂直となる第2の方向、へ上記第1の複合体および上記第2の複合体を配向させることが好ましい。

[0023] このように分子の配向を制御すると、上記第1の複合体の配向方向および上記第2の複合体の配向方向の切り替えに伴う減光量の変化が最大となる。そのため、溶液の減光量に対する第1の複合体の寄与分と、第2の複合体の寄与分とを、より高精度に測定することができる。

[0024] また、上記配向制御手段は、上記第1の複合体および上記第2の複合体の配向方向を所定の時間間隔で変化させ、上記検出手段は、減光量を複数回測定し、上記演算手段は、複数回測定した減光量の加算平均に基づいて上記生体分子を検出または定量することが好ましい。

[0025] このように上記第1の複合体の減光量および上記第2の複合体の減光量を複数回測定し、複数の減光量を加算平均等すれば、ノイズ等による測定毎の減光量のばらつきによる測定精度への影響を減少させることができる。

[0026] また、上記所定の時間間隔は、上記溶液中に存在する全ての上記第1の複合体および上記溶液中に存在する全ての上記第2の複合体の配向が完了する時間間隔であることが好ましい。

[0027] このように所定の時間間隔を決定すると、上記第1の複合体および上記第2の複合体の配向が完了した後まで測定を行うことがないため、最短の時間で測定を行うことができる。

- [0028] また、上記第1の光源から照射される光の波長は、上記金属ナノロッドの長軸方向由来の減光量の最大値が現れる波長であることが好ましい。
- [0029] このように光の波長を決定すると、上記第1の複合体の配向方向および上記第2の複合体の配向方向の変化に伴う上記溶液の吸光度の変化が最大となり、高精度の測定を行うことができる。
- [0030] また、上記溶液は、四角柱状の形状を有する容器保持部に保持されることが好ましく、さらに、上記第2の光源は、上記第2の光が上記容器保持部から出射する位置において焦点を結ぶように上記第2の光を照射することが好ましい。
- [0031] このように容器保持部から出射する位置において焦点を結ぶように第2の光を照射すると、第1の複合体および第2の複合体を容器保持部の壁面に押しつけながら回転させることができるため、配向制御しやすくなる。
- [0032] 上記溶液は、四角柱状の形状を有する容器保持部に保持されることが好ましく、さらに、上記第3の光源は、上記第3の光が上記容器保持部から出射する位置において焦点を結ぶように上記第3の光を照射することが好ましい。
- [0033] このように容器保持部から出射する位置において焦点を結ぶように第3の光を照射すると、第1の複合体および第2の複合体を容器保持部の壁面に押しつけながら回転させることができるため、配向制御しやすくなる。
- [0034] また、上記第2の光源は、上記溶液に対して上記第2の光を複数の位置から照射することが好ましい。上記第3の光源は、上記溶液に対して上記第3の光を複数の位置から照射することが好ましい。
- [0035] 溶液に対して複数の位置から上記第2の光または上記第3の光を照射すると、溶液内の様々な位置に存在する第1の複合体および第2の複合体の配向方向を制御しやすくなる。
- [0036] 上記検出手段は、減光量として上記溶液による上記第1の光の吸光度を測定してもよい。また、上記検出手段は、減光量として上記溶液による上記第1の光の散乱光を測定してもよい。

[0037] 上記検出手段は、減光量として、吸光度測定または散乱光測定のいずれか一方のみの測定を行ってもよい。いずれか一方のみの測定を行う場合には、いずれか一方の測定を行うための装置のみを備えればよく、装置構成が複雑とならない。また、吸光度測定および散乱光測定の双方の測定を行ってもよい。吸光度測定および散乱光測定の双方の測定を行うと、さらに高精度な測定を行うことができる。

[0038] また、上記目的を達成するために、本発明に係る生体分子検出方法は、特定の生体分子に特異的に結合し得る物質と光吸収特性に異方性を示す検出用標識とを有する第1の複合体、および上記生体分子が上記物質を介して上記第1の複合体に特異的に結合した第2の複合体、が含まれる溶液中において、上記第1の複合体および上記第2の複合体を少なくとも2つの方向へ配向させるステップと、特定方向の直線偏光成分を有する第1の光を上記溶液に照射するステップと、上記溶液による上記第1の光の減光量を測定するステップと、上記検出手段により測定した光の減光量に基づいて上記生体分子を検出または定量するステップと、を具備し、上記第1の光は、上記第1の複合体および上記第2の複合体の配向方向の変化により、上記検出用標識による減光量に変化が生じる波長の光であることを特徴とする。

[0039] このような方法で測定を行うと、簡便な構成で検出対象物質を高感度に測定することができる。

発明の効果

[0040] 本発明によれば、抗原や抗体等を壁面に固定する固相を用いないため反応が早く、高感度な生体分子検出を行うことができる。

図面の簡単な説明

[0041] [図1]実施の形態1に係る生体分子検出装置の抗原抗体反応の概要を示した模式図である。

[図2]図2Aはフリー分子の模式図、図2Bはバインディング分子の模式図である。

[図3]ナノロッドの吸光度特性を示したグラフである。

[図4]図4 Aは光の振動方向とナノロッドの長軸方向とが平行となる場合を示す図、図4 Bは光の振動方向とナノロッドの長軸方向とが垂直となる場合を示す図である。

[図5]図5 Aは実施の形態1に係る生体分子検出装置の外観斜視図、図5 Bは実施の形態1に係る生体分子検出装置の開閉部を開けた図である。

[図6]実施の形態1に係る生体分子検出装置の主要な構成を示すブロック図である。

[図7]配向制御用光源部から照射される配向制御光の照射方向の切り替えを上面から見た模式図である。

[図8]図8 Aは、配向制御光の照射方向と複数の分子の配向方向との関係を表した模式図、図8 Bは別のケースにおける配向制御光の照射方向と複数の分子の配向方向との関係を表した模式図である。

[図9]図9 Aは配向制御光の照射方向とフリー分子の配向方向およびバインディング分子の配向方向を描いた図、図9 Bは配向制御光の照射方向を切り替えた場合におけるフリー分子の動作およびバインディング分子の動作を描いた図、図9 Cは配向制御光の照射方向を切り替えフリー分子の配向およびバインディング分子の配向が完了した場合を描いた模式図である。

[図10]図10 Aは配向したフリー分子および配向したバインディング分子と光の振動方向との関係を描いた図、図10 Bは別の方向に配向したフリー分子および別の方向に配向したバインディング分子と光の振動方向との関係を描いた図である。

[図11]ナノロッドの配向の変化に伴う吸光度の変化を表したグラフである。

[図12]実施の形態1に係る生体分子検出装置における受光部の詳細な構成を表した模式図である。

[図13]検体の準備から廃棄までの流れを模式的に表した図である。

[図14]実施の形態1に係る生体分子検出装置における1周期の配向制御信号および溶液による波長905 nmの光の吸光度の時間変化を表したグラフである。

[図15]実施の形態1に係る生体分子検出装置における配向制御信号を複数周期に亘って示したグラフである。

[図16]実施の形態2に係る生体分子検出装置の抗原抗体反応の概要を示した模式図である。

[図17]実施の形態2に用いる2種類のバインディング分子の上面図である。

[図18]実施の形態2に用いる2種類のナノロッドの吸光度特性を示したグラフである。

[図19]実施の形態2に係る生体分子検出装置の主要な構成を示すブロック図である。

[図20]実施の形態2に係る生体分子検出装置における受光部の詳細な構成を表した模式図である。

[図21]実施の形態2に用いる2種類のナノロッドの配向の変化に伴う吸光度の変化を表したグラフである。

[図22]図22Aは溶液による波長905nmの光の吸光度の時間変化を表したグラフ、図22Bは溶液による波長1.1 μ mの光の吸光度の時間変化を表したグラフである。

[図23]図23Aは、一方から配向制御光を照射した場合のナノロッドの配向方向と吸光度測定光の振動方向とを表す概念図である。図23Bは、他方から配向制御光を照射した場合のナノロッドの配向方向と吸光度測定光の振動方向とを表す概念図である。

[図24]図24Aは実施の形態3に係る生体分子検出装置の主要な構成を示すブロック図である。図24Bは、実施の形態3に係る生体分子検出装置の光源部および配向制御用光源部と受光部との位置関係を表した図である。

[図25]図25Aはナノロッドの一方の配向方向と吸光度測定光の振動方向との関係を表した概念図である。図25Bは、ナノロッドの他方の配向方向と吸光度測定光の振動方向との関係を表した概念図である。

[図26]ナノロッドの配向方向の変化に伴う吸光度の変化を表したグラフである。

[図27]図27A～図27Cは配向制御光の振動方向の変化に対するナノロッドの配向を表した図である。

[図28]試薬カップの多点に配向制御光を照射する場合を示す図である。

[図29]配向制御光を多点に入射させるための配向制御用光源部の構造を示す図である。

[図30]配向制御光を多点に入射させるための光学系の一例を示す図である。

[図31]配向制御光を多点に入射させるための光学系の別の例を示す図である。

[図32]マイクロレンズアレイを示す図である。

[図33]試薬カップの形状の一例を示す図である。

[図34]試薬カップに対する配向制御光の焦点の位置を示す図である。

[図35]配向制御信号の周波数に同期した吸光度成分を検出する例を示す図である。

[図36]3種のバインディング分子の濃度についての、配向制御信号の周波数に対するロックインアンプ出力についての検量線データを示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0042] 以下、添付図面を参照しながら本発明の実施の形態について説明する。

[0043] (実施の形態1)

実施の形態1では、1種類の抗体を使用し、均一溶液中で検出対象物質である特定の1種類の抗原を検出する。図1Aおよび図1Bは、本発明の実施の形態1に係る生体分子検出装置100における抗原抗体反応の概要を示した模式図である。図1Aおよび図1Bを用いて、液中での抗原抗体反応について説明する。図1Aにおいて、円筒形の試薬カップ10の中に乾燥した抗体12が入れている。抗体12はナノロッド8に結合されている。ナノロッドとは、ナノサイズの柱状の微粒子のことである。

[0044] 本実施の形態においては、検体は全血から分離した血漿16である。試薬カップ10に血漿16を分注して攪拌すると、抗体12と特異的に結合する

抗原 1 8 が血漿 1 6 中に存在する場合は、抗体 1 2 と抗原 1 8 との間で抗原抗体反応が起こり、図 1 B に示すように抗原 1 2 に抗体 1 8 が特異的に結合する。抗体 1 2 は抗原 1 8 に対して十分に多い量が入れているため、一部の抗体 1 2 は抗原抗体反応をしないまま血漿溶液中に残る。以下、抗原抗体反応で結合した抗体 1 2 および抗原 1 8 ならびにナノロッド 8 の複合体をバインディング分子と呼ぶ。また、抗原 1 8 と結合していない抗体 1 2 およびナノロッド 8 の複合体をフリー分子と呼ぶ。血漿 1 6 にフリー分子を混合させると、一定時間経過後、バインディング分子およびフリー分子が混在した血漿溶液となる。なお、血漿中には抗原 1 8 以外の成分も存在するが、説明を簡単にするため、図 1 A および図 1 B では抗原 1 8 以外の成分は省略してある。

[0045] 生体分子検出装置 1 0 0 は、フリー分子およびバインディング分子が混在している溶液に対して光を照射し、当該溶液による吸光度、特にナノロッド 8 による吸光度を測定することにより抗原 1 8 の検出および定量を行う。ここで、ナノロッド 8 は、フリー分子に付随するものとバインディング分子に付随するものとが存在する。フリー分子およびバインディング分子は当該溶液中に混在しているため、当該溶液の吸光度は、当該溶液中に存在する全てのナノロッド 8 による吸光度の合算値である。そのため、抗原 1 8 を含むバインディング分子に付随するナノロッド 8 による吸光度への寄与分を算出することは困難である。そこで、生体分子検出装置 1 0 0 は、溶液中においてフリー分子およびバインディング分子は運動のし易さが異なること、ならびにフリー分子およびバインディング分子に付随するナノロッドの長軸方向の向きと光の振動方向との関係が吸光度に影響を与えることを利用して溶液の吸光度を測定して抗原 1 8 の検出および定量を行う。具体的には、フリー分子およびバインディング分子を配向させ、配向方向の切り替えに伴うフリー分子の吸光度の時間変化とバインディング分子の吸光度の時間変化との差から、溶液全体の吸光度におけるバインディング分子の吸光度の寄与分を算出する。そして、算出されたバインディング分子の吸光度（寄与分）に基づい

て、抗原 18 の検出および定量を行う。

[0046] 生体分子検出装置 100 において、バインディング分子による吸光度への寄与分と、フリー分子による吸光度への寄与分とを算出する原理を説明するために、生体分子検出装置 100 に用いるフリー分子およびバインディング分子の構造について、図 2 A および図 2 B を用いて説明する。図 2 A はフリー分子 20 の模式図を表す。フリー分子 20 は、抗体 12 およびナノロッド 8 を有する。

[0047] ナノロッド 8 と抗体 12 は結合されている。ナノロッド 8 と抗体 12 との結合は、公知の任意の方法を用いることができる。例えば、アビジン金標識ナノロッドとビオチン化抗体を混合することにより結合させることができる。別の方法としては、プロテイン A の物理吸着を利用し、プロテイン A を介して金ナノロッドに抗体を結合させる方法がある。具体的には、まず金ナノロッドにプロテイン A を物理吸着させ、続いて抗体を吸着させる。一般的に金属類はタンパク質をよく吸着することが知られているため、金ナノロッドにプロテイン A を物理吸着させるため、無処理の金ナノロッド液にプロテイン A 液を添加し 1 時間程度放置する。1 時間後に、スピンフィルターで未吸着の金ナノロッドおよびプロテイン A をろ過分離すれば、プロテイン A が吸着した金ナノロッドが得られる。続いて、プロテイン A が吸着した金ナノロッド液に抗体を添加し、1 時間程度放置する。1 時間後に、スピンフィルターで未吸着の金ナノロッドおよび抗体をろ過分離すれば、抗体が結合した金ナノロッドが得られる。ここでプロテイン A とは、黄色ブドウ球菌の細胞壁成分の 5 % を占めるタンパク質である。プロテイン A は、抗体と特異的に結合する。

[0048] 抗体 12 は、抗原 18 と特異的に結合する物質であり、ナノロッド 8 に結合されている。抗体 12 は、生体分子検出装置 100 のユーザーが検出した検出対象物質と特異的に結合するものを使用する。

[0049] 本実施の形態では、検体に全血から分離した血漿を用い、検出対象物質と特異的に結合する抗体 12 に抗 P S A 抗体を用いる。そのため、検出対象物

質である抗原 18 として PSA (Prostate Specific Antigen) を検出することとなる。

[0050] ナノロッド 8 は、図 2 A に示すように短軸方向と長軸方向との長さが異なり、アスペクト比（長軸長さ／短軸長さ）が 1 より大きく細長い柱状の形状を有する。ナノロッドは、金属の微粒子である。

[0051] フリー分子 20 が示す吸光度もバインディング分子 22 が示す吸光度も、主にナノロッド 8 による吸光の影響が大半である。従って、抗体 12 や抗原 18 による吸光現象の程度は、ナノロッド 8 による吸光に比べると無視できるほど小さい。

[0052] ナノロッド 8 の吸光スペクトルを説明するため、まず金属の微粒子の吸光特性について説明する。一般に、溶液中に分散した金属の微粒子に光を照射すると、特定の波長（プラズモン共鳴波長）の光が金属のプラズモンと共鳴して吸収されることが知られている。これは局在表面プラズモン共鳴 (Localized Surface Plasmon Resonance) と呼ばれる。局在表面プラズモン共鳴におけるプラズモン共鳴波長は、金属微粒子の種類、形状、配列などの構造によって異なる。例えば、球状の金微粒子が水に分散した場合は、プラズモン共鳴波長が 530 nm 程度となる。

[0053] 柱状の金属微粒子であるナノロッドは、球状の金属微粒子の場合とは異なり、短軸方向のプラズモン共鳴波長と長軸方向のプラズモン共鳴波長とが異なり、2つのピークを有する吸光スペクトルが得られる（図 3 に模式図を示す）。この吸光スペクトルにおける波長 500 nm 付近に位置するピークは、ナノロッドの短軸方向のプラズモン共鳴によるものである。また、波長 900 nm 付近のピークは、ナノロッドの長軸方向のプラズモン共鳴によるものである。

[0054] ナノロッドの長軸方向由来のプラズモン共鳴波長は、ナノロッドのアスペクト比が高くなると、すなわちより細長い形状となると、長波長側にシフトしていくことが知られている。本実施の形態では、短軸 10 nm、長軸 50 nm の金ナノロッドを使用する。この金ナノロッドは、長軸方向由来のプラ

ズモン共鳴波長が約900nmとなる。

[0055] 金ナノロッドは、低分子化合物や高分子化合物を保護剤としてナノロッド表面に吸着ないし結合させることによって、金属微粒子が凝集することなく安定的に溶媒に分散する。

[0056] 図2Bはバインディング分子22の模式図を表す。バインディング分子22は、抗体12、ナノロッド8および抗原18を有する。バインディング分子22においては、抗体12が抗原18と結合している。

[0057] ナノロッド8に光を照射する場合、光の振動方向とナノロッド8の長軸の方向との関係は、ナノロッド8による光の吸光度に影響を与える。光は電磁波の一種であるが、ここでは「光の振動方向」とは電場の振動方向を意味するものとする。本実施の形態では、図4AおよびBに示すように、直線偏光された光19がナノロッド8に照射される場合を例にとって説明する。ここで、直線偏光とは、光の振動方向が一定であり、偏光面が変化しない光を指す。図4AおよびBの場合においては、直線偏光された光19は、xy平面内を振動しながらy軸の正の方向に向かって進行する。光19の運動を進行方向と振動方向とに分けて考えると、y軸の正の方向が進行方向となり、x軸方向が振動方向となる。直線偏光した光の進行方向および振動方向が存在する面（ここではxy平面）を偏光面という。また、直線偏光した光の振動方向を偏光軸という。直線偏光された光19の振動方向がナノロッド8の長軸方向と平行な場合（図4A）には、ナノロッド8の長軸方向由来の吸光度が最大となる。直線偏光された光の振動方向とナノロッド8の長軸方向とが垂直な場合（図4B）には、ナノロッド8の長軸方向由来の吸光度が最小となる。つまり、溶液中におけるナノロッド8の向きは、ナノロッド8による吸光度に影響を与える。

[0058] このように、ナノロッドの長軸方向と光の振動方向との関係は、ナノロッドの吸光度に影響を与えるが、ナノロッドの長軸方向と光の振動方向との関係は、フリー分子20に付随するナノロッド8およびバインディング分子22に付随するナノロッド8においても同様である。

- [0059] 溶液中ではフリー分子 20 およびバインディング分子 22 は運動しており、溶液中におけるフリー分子 20 およびバインディング分子 22 の向き、すなわち双方の分子におけるナノロッド 8 の向きは溶液の吸光度に影響する。そこで、溶液中におけるフリー分子 20 およびバインディング分子 22 の運動について検討する。フリー分子 20 およびバインディング分子 22 は、溶液中で不規則にブラウン運動しており、溶液中において移動および回転運動を行っている。従って、フリー分子 20 の向きおよびバインディング分子 22 の向きは様々である。
- [0060] 溶液中での分子のブラウン運動は、絶対温度、分子の体積または質量、溶媒の粘度等の影響を受けることが知られている。バインディング分子 22 は、抗原 18 の分だけフリー分子 20 より体積および質量が大きく、溶液中でブラウン運動しにくい。フリー分子 20 およびバインディング分子 22 が溶液中でブラウン運動のしやすさが異なることを利用して、ブラウン運動の変化からバインディング分子 22 の検出を行う方法が知られているが、ブラウン運動というランダムな運動を利用しているため検出感度に限界がある。
- [0061] そこで、生体分子検出装置 100 は、配向制御光たるレーザーを利用して溶液中のフリー分子 20 の配向およびバインディング分子 22 の配向を制御する。溶液中に存在するフリー分子 20 およびバインディング分子 22 にレーザーを照射すると、主にナノロッド 8 が外力を受け、溶液中でランダムな運動をしていたフリー分子 20 およびバインディング分子 22 は、特定の一方方向を向く。なお、このように外力を受けて複数存在する分子の全てが特定の一方方向を向いた状態を「配向が完了」した状態と表現することとする。フリー分子 20 およびバインディング分子 22 は、体積または質量の違いにより溶液中における回転運動のしやすさが異なるため、例えば、レーザーで溶液中の分子の配向を制御した場合においても、フリー分子 20 とバインディング分子 22 とでは、レーザーが照射されてから配向が完了するまでに要する時間に差が生じる。生体分子検出装置 100 は、回転運動のし易さが異なることを利用して、溶液の吸光度からバインディング分子による吸光度を分

離し、生体分子を検出する。より詳細には、本実施の形態では、フリー分子とバインディング分子と配向完了に要する時間の差を用いて生体分子を検出する。生体分子検出装置 100 は、フリー分子 20 が配向を完了するまでに要する時間とバインディング分子 22 が配向を完了するまでに要する時間との差を利用して、フリー分子 20 による吸光度が変化する速さとバインディング分子 22 による吸光度が変化する速さとの間に差を生じさせ、溶液の吸光度におけるバインディング分子 22 による寄与分を算出する。

[0062] 続いて、本発明の実施の形態 1 に係る生体分子検出装置 100 の構成について説明する。

[0063] 図 5 A は、生体分子検出装置 100 の外観斜視図である。生体分子検出装置 100 の側面には、表示部 102、ユーザー入力部 104 および開閉部 106 が設けられている。表示部 102 は、測定結果等を表示する。ユーザー入力部 104 は、モードの設定、検体情報の入力等を行う。開閉部 106 は、上蓋の開閉が可能な構成となっており、検体のセット時には上蓋を開け、測定時は上蓋を閉じる。この構成により、外部の光が測定に影響を与えることを防いでいる。

[0064] 図 5 B は、開閉部 106 を開いた場合における生体分子検出装置 100 の外観斜視図である。開閉部 106 を開くと、生体分子検出装置 100 の中には試薬カップ 108 および保持台 110 がある。試薬カップ 108 は、保持台 110 に保持されており、保持台 110 から着脱可能となっている。試薬カップ 108 は、溶液を入れる円柱状の容器である。ユーザーは、試薬カップ 108 に検体を分注し、上蓋を閉じて測定を行う。図示しないが、生体分子検出装置 100 内には試薬タンクおよび分注部が設けられており、測定が開始されると、分注部は試薬タンク内から試薬（例えば、抗体およびナノロッド）を吸い上げて試薬カップ 108 内に分注する。

[0065] 図 6 は、生体分子検出装置 100 の主要な構成を説明するための機能ブロック図である。生体分子検出装置 100 は、表示部 102、ユーザー入力部 104、試薬カップ 108、試薬タンク 112、分注部 114、配向制御用

光源部 116、光源部 118、AOD (Acousto Optic Deflector) 120、ファンクションジェネレータ (以下、FGと示す) 122、受光部 124、増幅部 126、A/D変換部 128、サンプリングクロック発生部 130、CPU 132およびダイクロイックミラー 138を有する。

[0066] 試薬カップ 108は、試薬タンク 112に保存してある試薬と患者等から採取した検体とを反応させる容器である。試薬カップ 108は、円柱状の形状を有している。試薬カップ 108は、生体分子検出装置 100から着脱可能となっている。試薬カップ 108の容量は、約 120 μ Lである。

[0067] 試薬タンク 112は、複数種類の試薬をそれぞれ別の容器に入れて貯めておくタンクである。ここで、試薬とは、抗原、抗体、ナノロッドまたはそれらの複合体等、生体分子検出装置 100における測定に係わる物質をいう。本実施の形態では、フリー分子 20は試薬タンク 112中に保存されている。

[0068] 分注部 114は、着脱可能なピペットや吸引器によって構成される。分注部 114は、CPU 132から出力される命令に従い、測定に使用する試薬を試薬タンク 112からピペットで吸い上げ、試薬カップ 108へ分注する。

[0069] 配向制御用光源部 116は、配向制御光 117をAOD 120に向けて照射し、試薬カップ 108内の溶液中に存在するフリー分子およびバインディング分子に外力を加えて分子の配向を制御する。配向制御光 117には、波長 1000 nm、出力 700 mWのレーザーを用いる。配向制御光 117は、試薬カップ 108の溶液全体を照らす程度のビーム幅を有している。

[0070] 光源部 118は、内部に備えた偏光子により直線偏光した吸光度測定用の光 (以下、吸光度測定光 119という) を試薬カップ 108の側面から試薬カップ 108を挟んで受光部 124に向けて照射する。吸光度測定光 119には、波長 905 nm、出力 0.1 mWの光を用いる。なお、吸光度測定光 119には、ナノロッド 8の長軸方向由来のピークが生じる波長の光を用い

ることが望ましいが、ここでは光源の入手の容易性を考えて波長 905 nm の光を用いる。

[0071] AOD120は、音響光学効果を利用して、入力電圧に基づいて内部の屈折率を変化させることにより、入射した光の進行方向を切り替える。AOD120は、FG122から出力された電圧信号（以下この信号を配向制御信号という）が示す電圧に基づいて、内部の屈折率を変化させて配向制御光117の進行方向を切り替える。すなわち、配向制御光117の進行方向は、FG122が発生する電圧信号によって決まる。

[0072] FG122は、様々な周波数と波形をもった電圧信号を発生させることのできる装置で、CPU132から出力される命令を受けて、AOD120およびサンプリングクロック発生部130へそれぞれ異なる電圧信号を出力する。

[0073] CPU132は、生体分子検出装置100の各部の動作を統括的に制御すると共に、測定結果の演算等を行う。CPU132は、FG122が出力する配向制御信号を指定することにより、AOD120が配向制御光117の照射方向を切り替えるタイミングを制御する。

[0074] 受光部124は、試薬カップ108を挟んで光源部118の対面に設けられている。受光部124は、試薬カップ108を透過した吸光度測定光119を受光し、アナログ電気信号に変換して増幅部126へ出力する。

[0075] 増幅部126は、受光部124から出力されたアナログデータを増幅してA/D変換部128へ出力する。

[0076] サンプリングクロック発生部130は、FG122から入力される電圧信号に基づいて、A/D変換部128がアナログデータをサンプリングするタイミングを指定するサンプリングクロックをA/D変換部128に入力する。

[0077] A/D変換部128は、サンプリングクロック発生部130から出力されるサンプリングクロックに基づいて、増幅部126から出力されたアナログデータのサンプリングを行い、アナログデータをデジタルデータに変換して

CPU 132へ出力する。

[0078] CPU 132は、A/D変換部128から出力されたデジタルデータを基に、吸光度測定光119に対する溶液の吸光度の演算および検出対象物質の定量を行い、その結果を表示部102へ出力する。また、CPU 132は、ユーザー入力部104から入力される信号に基づき、配向制御用光源部116、光源部118、分注部114およびFG 122の各々の動作に対する指示命令を行う。具体的には、CPU 132は、配向制御用光源部116および光源部118に対し、オン/オフ命令を行う。また、分注部114に対して、使用する試薬を指定する命令および分注動作開始命令を行う。さらに、FG 122に対して、出力する信号波形の指示命令および出力命令を行う。

[0079] ダイクロイックミラー138は、特定波長の光を反射し、その他の波長の光を透過するミラーである。ダイクロイックミラー138は、配向制御光117を反射し、吸光度測定光119を透過させる。

[0080] 図7は、配向制御用光源部116から照射される配向制御光117の照射方向の切り替えを、生体分子検出装置100の上方から見た模式図である。図7を用いて、試薬カップ108に対する配向制御光117の照射方向の切り替えについて詳細に説明する。

[0081] 配向制御用光源部116から照射される配向制御光117は、AOD 120を通して試薬カップ108へ照射される。

[0082] AOD 120は、FG 122から5Vの配向制御信号が入力された場合は、配向制御光117の進行方向を切り替える。この場合、配向制御光117は、配向制御光134の方向へ進んで試薬カップ108の側面に入射する。

[0083] AOD 120は、FG 122から0Vの配向制御信号が入力された場合は、配向制御光117を素通りさせ、配向制御光136の方向へ進ませる。配向制御光136は、ダイクロイックミラー138によって反射され、配向制御光134の進行方向と垂直な方向に進んで試薬カップ108の側面に入射する。上方から見た試薬カップ108を時計の文字盤に例えると、配向制御光134は9時の方向から入射して3時の方向へ進行し、配向制御光136

は6時の方向から入射して12時の方向へ進行する。

[0084] ダイクロイックミラー138は、配向制御光117として用いた波長の光のみを反射し、その他の波長の光を透過する。光源部118から照射された吸光度測定光119は、ダイクロイックミラー138を透過し、ダイクロイックミラー138で反射した配向制御光136と同じ方向に進行して試薬カップ108の側面に入射する。

[0085] このような構成により、生体分子検出装置100は、配向制御光117が試薬カップ108へ照射される方向を、角度が90度異なる2つの方向に切り替えることができる。AOD120と試薬カップ108との間には遮光板140が設けられ、配向制御光134の進行方向および配向制御光136の進行方向以外に進行する配向制御光117は、試薬カップ108へ照射されない。また、配向制御光117は、配向制御光134の進行方向に進行した場合においても、配向制御光136の進行方向に進行した場合においても、円柱状の試薬カップ108の側面から入射される。試薬カップ108は円柱状の形状を有しているため、配向制御光117の進行方向が切り替わっても、試薬カップ108の配向制御光117が入射する側面の形状は同じである。従って、配向制御光117がいずれの方向に進行しても、試薬カップ108の形状により与えられる影響は同等となる。

[0086] 配向制御用光源部116は、AOD120を介して配向制御光134、136という外力をフリー分子20およびバインディング分子22に加えることにより、フリー分子20およびバインディング分子22を特定の方向へ配向させる。配向制御光134、136による外力は、これらの光がフリー分子20およびバインディング分子22に当たって散乱する際の反作用として生じるものである。フリー分子20およびバインディング分子22は、図2に示したように、主要部分を占めるナノロッド8が細長い形状を有しているため、分子全体として観てもナノロッド8の長軸方向に伸びた異方性を有した分子となっている。従って、配向制御光134、136がフリー分子20またはバインディング分子22に当たった場合、配向制御光134、136

に対する反作用がより小さくなるように（配向制御光 1 3 4、1 3 6 に当たる面積がより小さくなるように）フリー分子 2 0 またはバインディング分子 2 2 は回転する。その結果、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 の向き（ナノロッド 8 の長軸の向き）と配向制御光 1 3 4、1 3 6 の進行方向とが平行となるようになる。この平行関係となったときがエネルギー的に最も安定した状態であるため、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 の回転はここで停止する。換言すると、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 は、配向制御光 1 3 4、1 3 6 が照射されていないときは、溶液中でランダムな方向を向いて分散しているが、配向制御光 1 3 4 が照射されると、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 が回転し、その全てのナノロッド 8 の長軸方向が配向制御光 1 3 4 の進行方向に揃うような位置で停止する。配向制御光 1 3 6 が照射される場合も同様に、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 が回転し、その全てのナノロッド 8 の長軸方向が配向制御光 1 3 6 の進行方向に揃うような位置で停止する。配向制御光 1 3 6 が照射される場合も同様に、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 が回転し、その全てのナノロッド 8 の長軸方向が配向制御光 1 3 6 の進行方向に揃うような位置で停止する。

[0087] 図 8 A および B は、レーザーの照射方向とフリー分子 2 0 またはバインディング分子 2 2 の配向方向との関係を表した模式図である。図 8 A および B は、試薬カップ 1 0 8 を上方から見た図である。

[0088] 図 8 A は、試薬カップ 1 0 8 の側面から配向制御光 1 3 6 が照射され、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 の双方が配向制御光 1 3 6 の進行方向と同方向に配向した場合を示した図である。この図に示すように、配向制御光 1 3 6 の照射を受けている溶液中に存在する全てのフリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 が同一方向に配向する。すなわち、フリー分子 2 0 に付随するナノロッド 8 の長軸方向およびバインディング分子 2 2 に付随するナノロッド 8 の長軸方向が同一方向に揃う。

[0089] 図 8 B は、図 8 A に示した配向制御光 1 3 6 とは 9 0 度異なる方向に進行

する配向制御光 1 3 4 が試薬カップ 1 0 8 の側面から照射され、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 が配向制御光 1 3 4 の進行方向と同方向に配向した場合を示した図である。配向制御光 1 3 6 から配向制御光 1 3 4 へのように、配向制御光の照射方向が 9 0 度切り替わると、配向制御光 1 3 6 の進行方向に（ナノロッドの長軸方向を向けて）配向していたフリー分子 2 0 は回転する方向の力を受ける。バインディング分子 2 2 も同様に、配向制御光の照射方向が 9 0 度切り替わると、回転する方向の力を受ける。その後、十分な時間が経過すれば、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 は、配向制御光 1 3 4 の照射方向、すなわち紙面左右方向にナノロッドの長軸方向を向けて配向する。この場合においても、フリー分子 2 0 に付随するナノロッド 8 の長軸方向、およびバインディング分子 2 2 に付随するナノロッド 8 の長軸方向が同一方向に揃う。配向制御光の照射方向を切り替えて十分な時間が経過すれば、全てのフリー分子 2 0 に付随するナノロッド 8 の長軸方向、および全てのバインディング分子 2 2 に付随するナノロッド 8 の長軸方向は同一方向に揃うが、フリー分子 2 0 が配向を完了するまでに要する時間と、バインディング分子 2 2 が配向を完了するまでに要する時間とは差が生じる。

[0090] 図 9 A～C に示す模式図を用いて、配向制御用光源部 1 1 6 から照射される配向制御光 1 1 7 の進行方向の切り替えに伴うフリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 の動作を詳細に説明する。なお、ここでは理解を容易にするために、試薬カップ 1 0 8 中にフリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 がそれぞれ 1 つずつ存在する場合を例に取り説明する。

[0091] 図 9 A は、A O D 1 2 0 が配向制御光 1 1 7 を素通りさせた場合（配向制御光 1 1 7 の進行方向に変化がない場合）におけるフリー分子 2 0 の配向方向およびバインディング分子 2 2 の配向方向を示す図である。配向制御光 1 3 6 が紙面下から上に進行して試薬カップ 1 0 8 に入射すると、フリー分子 2 0 およびバインディング分子 2 2 は、それぞれに付随するナノロッド 8 の長軸方向が配向制御光 1 3 6 の進行方向と平行となる向き（この場合、紙面

上下方向)に配向する。

[0092] 図9Bは、AOD120が配向制御光117の進行方向を切り替えた場合のフリー分子20およびバインディング分子22の動作を説明するための図である。配向制御光134が紙面左から右に進行して試薬カップ108に入射すると、フリー分子20およびバインディング分子22は、それぞれに付随するナノロッド8の長軸方向が配向制御光117の進行方向と同一方向となるように回転する。この場合、バインディング分子22に比べて体積および質量が小さいフリー分子20の方が速く回転し、配向完了までに要する時間が短い。バインディング分子22は、フリー分子20より遅れて配向を完了する。

[0093] 図9Cは、AOD120が配向制御光117の進行方向を切り替えた場合におけるフリー分子20の配向方向およびバインディング分子22の配向方向を示す図である。配向制御光134が紙面左から右に進行して試薬カップ108に入射すると、フリー分子20およびバインディング分子22は、それぞれに付随するナノロッドの長軸方向が配向制御光134の進行方向と平行となる向き（この場合紙面左右方向）に配向する。

[0094] このようにして、生体分子検出装置100は、フリー分子20の配向方向およびバインディング分子22の配向方向を、角度が互いに90度異なる2つの方向に切り替えることができる。

[0095] 次いで、フリー分子20およびバインディング分子22の各々の配向方向と吸光度測定光119との関係について、図10AおよびBを用いて説明する。

[0096] 図10Aは、FG122からAOD120への出力が0Vの場合における、フリー分子20およびバインディング分子22の各々の配向方向と吸光度測定光119の振動方向との関係を示した模式図である。

[0097] FG122からAOD120への出力が0Vの場合、吸光度測定光119の振動方向とナノロッド8の長軸方向とが垂直となる。この場合、フリー分子20に付随するナノロッド8の長軸方向に由来する吸光度も最小となるし

、バインディング分子 22 に付随するナノロッド 8 の長軸方向に由来する吸光度も最小となる。

[0098] 図 10B は、FG 122 から AOD 120 への出力が 5 V の場合における、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 の各々の配向方向と吸光度測定光 119 の振動方向との関係を示した模式図である。

[0099] FG 122 から AOD 120 への出力が 5 V の場合、吸光度測定光 119 の振動方向とナノロッド 8 の長軸方向とが平行となる。この場合、フリー分子 20 に付随するナノロッド 8 の長軸方向に由来する吸光度も最大となるし、バインディング分子 22 に付随するナノロッド 8 の長軸方向に由来する吸光度も最大となる。

[0100] このように、AOD 120 による配向制御光 117 の照射方向の切り替え、すなわちフリー分子 20 およびバインディング分子 22 の配向方向の切り替えは、フリー分子 20 またはバインディング分子 22 に付随するナノロッド 8 の長軸方向由来の吸光度を最大と最小との間で切り替えることになる。図 11 は、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 の配向方向の切り替えに伴う吸光度の変化を示したグラフである。本実施の形態に用いたナノロッド 8 の場合は、波長 900 nm 付近の光に対する吸光度が、吸光度測定光 119 の振動方向とナノロッドの長軸方向との関係により変化する。吸光度測定光 119 の振動方向とナノロッドの長軸方向とが垂直関係にある場合に吸光度が最小となり、吸光度測定光 119 の振動方向とナノロッドの長軸方向とが平行関係にある場合に吸光度が最大となる。ここで、ナノロッド 8 の配向方向の変化に伴い吸光度が最も大きく変化するのは、ピークが表れる波長の光に対する吸光度、すなわち 900 nm の光に対する吸光度である。

[0101] 配向制御光の 117 の照射方向の切り替えによりフリー分子 20 およびバインディング分子 22 の配向方向は切り替わるが、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 は、体積、質量が異なるため、配向制御光 117 の照射方向の切り替えに対して配向を切り替える速度が異なる。フリー分子 20 は、バインディング分子 22 に比べて体積、質量が小さいため、配向制御光

117の照射方向の切り替えに対してバインディング分子22よりも早く配向方向が変化する。つまり、バインディング分子22より早く配向が完了するため、1分子あたりの吸光度が最大となる時間的タイミングがバインディング分子22よりも早い段階で現れる。

[0102] 生体分子検出装置100は、配向制御光117の照射方向の切り替えに伴いフリー分子20の吸光度とバインディング分子22の吸光度とが変化するタイミングが異なることを利用して、配向制御光117の照射方向の切り替えに伴う溶液の吸光度の時間変化に基づいて、吸光度の合計に対するフリー分子20の寄与分とバインディング分子22の寄与分との分離を行う。

[0103] 続いて図12を用いて受光部124の詳細な構成について説明する。図12は、受光部124の詳細な構成を表した模式図である。受光部124は、レンズ142、フィルタ144、偏光子146、レンズ148およびフォトダイオード150を含む。

[0104] 受光部124は、試薬カップ108の底面側から試薬カップ108を透過した吸光度測定光119を受光する。試薬カップ108内のフリー分子20またはバインディング分子22を透過した吸光度測定光119は、レンズ142によって集光され、フィルタ144、偏光子146およびレンズ148を通過してフォトダイオード150へ入射される。この図では、吸光度測定光119の左端147および右端149を用いて光の進行方向を表してある。

[0105] フィルタ144は、吸光度測定光119の波長以外の波長の光をカットするバンドパスフィルタであり、配向制御光等の吸光度測定光119以外の光がフォトダイオード150へ入射することを防いでいる。

[0106] 偏光子146は、吸光度測定光119の振動方向と同じ方向に振動する光のみを透過させる。

[0107] フォトダイオード150は、レンズ148によって集光された吸光度測定光119を受光し、吸光度測定光119の強度に応じた電荷を発生させて増幅部126へ出力する。このようにして受光部124は、試薬カップ108内を透過した吸光度測定光119のみを受光し、ノイズの原因となるその他

の光を受光しない。

[0108] 続いて、生体分子検出装置 100 の測定時における動作について説明する。図 13 は、検体の準備から廃棄までの流れを模式的に表した図である。

[0109] 測定の準備にあたり、まず患者から 50 μ L 採集した全血 156 を遠心分離し、血漿 16 を分離する。分離して取り出した血漿 16 を、生体分子検出装置 100 の検体セット部 152 にセットする。ここまでの作業はユーザーが行う。

[0110] 生体分子検出装置 100 は、検体セット部 152 にセットされた血漿を、試薬カップストック部 160 にストックしてある未使用の試薬カップ 108 の中に分注する。続いて、生体分子検出装置 100 は、試薬タンク 112 の中に存在するフリー分子 20 をピペット 158 で吸い上げ、試薬カップ 108 の中に分注する。試薬カップ 108 内に血漿 16 およびフリー分子 20 を注入後、生体分子検出装置 100 は、試薬カップ 108 を 37℃ で温調しながら、内蔵したボルテックスミキサーによって振動させ、抗原抗体反応を起こさせる。その後、生体分子検出装置 100 は、吸光度測定光 119 の照射、検出対象物質の検出もしくは定量等の測定を行い、測定終了後に試薬カップ 108 を内蔵のごみ箱 154 へ廃棄する。

[0111] 測定の際に FG 122 が出力する配向制御信号の変化、および試薬カップ内の溶液による波長 905 nm の光の吸光度の変化について、図 14 を用いて説明する。図 14 は、縦軸が生体分子検出装置 100 における配向制御信号の電圧または波長 905 nm の配向制御光の吸光度を表し、横軸が時間 t を表したグラフである。なお、ここでは説明を容易にするため、波長 905 nm の光の吸光度については、グラフを模式的に示してある。

[0112] FG 122 から出力される配向制御信号は、測定前は 0 V となっている。測定前においては、配向制御光 117 を試薬カップ 108 内の溶液中に照射して、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 を同一方向に配向させておく。測定の開始に伴い、CPU 132 は吸光度測定光 119 の照射を開始する命令を光源部 118 へ出力する。配向制御信号が 0 V の場合、試薬カ

ップ108内の溶液の吸光度は i_z の値となる。

[0113] 試薬カップ108に向けて吸光度測定光119が照射されると、溶液内のナノロッド8は、局在表面プラズモン共鳴を起こし、吸光度測定光119を吸収する。吸光度測定光119は、ナノロッド8により吸収され弱められながら溶液を透過し、受光部124内のフォトダイオード150へ入射する。光源部118から照射された吸光度測定光119の当初の出力と、フォトダイオード150で受光された吸光度測定光119の出力とから、配向制御信号が0Vの場合におけるナノロッド8による吸光度測定光119の吸光度 i_z が測定される。

[0114] 続いて、CPU132は、時刻T1で配向制御信号を5Vにする命令を出力する。配向制御信号を5Vとすると、AOD120が配向制御光117の照射方向を90度切り替える。配向制御光117の照射方向の切り替えに伴い、試薬カップ108内に存在するフリー分子20およびバインディング分子22は、配向方向が90度切り替わる。

[0115] フリー分子20の配向方向の切り替え、およびバインディング分子22の配向方向の切り替えが開始され、吸光度測定光119の振動方向とナノロッド8の長軸方向とが同方向に近づくほど、吸光度測定光119とナノロッド8とが局在表面プラズモン共鳴を起こす割合が増加し、吸光度が増加する。従って、フリー分子20の配向方向の切り替え、およびバインディング分子22の配向方向の切り替えが開始することに伴い、波長905nmの光に対する溶液の吸光度も i_z から増加していく。この場合、バインディング分子22に比べて体積、質量の小さいフリー分子20の方が配向方向の切り替えが速いため、フリー分子20の方が吸光度の変化も速くなる。

[0116] 配向方向の切り替えが完了した（ここでは、吸光度測定光119の振動方向とナノロッド8の長軸方向とが平行となった）フリー分子20およびバインディング分子22は、吸光度測定光119の吸光度が最大となる。フリー分子20の方が配向方向の切り替えが速いため、時刻T2で全てのフリー分子20の配向方向の切り替えが完了すると、波長905nmの光の吸光度は

、値 i_f で飽和する。

[0117] その後、バインディング分子 22 の配向方向が切り替わることに伴い、吸光度のグラフは時刻 T_3 で再び増加していく。時刻 T_4 で全てのバインディング分子 22 の配向方向の切り替えが完了すると、波長 905 nm の光の吸光度は値 i_t で飽和する。

[0118] 配向制御信号は、5 V の出力が T 秒間続いた後 0 V となる。この T 秒は、波長 905 nm の光の吸光度が時刻 T_4 において 2 度目の飽和をするのに十分な時間を少なくとも設定する。配向制御信号が 5 V から 0 V に切り替わると、波長 905 nm の光の吸光度は、しばらく i_t の値を示すが、その後 i_z の値まで減少する。波長 905 nm の光の吸光度が i_z となる理由は、配向制御信号が 0 V に切り替わったことに伴い、吸光度測定光 119 の振動方向とフリー分子 20 およびバインディング分子 22 に付随する双方のナノロッド 8 の長軸方向とが垂直となり、フリー分子 20 またはバインディング分子 22 の 1 分子あたりの吸光度が減少するためである。配向制御信号が 0 V となった状態においても波長 905 nm の光の吸光度がしばらくの時間は i_t という値を示す理由は、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 の配向方向の切り替えタイミングが、配向制御信号の切り替えタイミングに対して少し時間的に遅れるためである。

[0119] ここで、配向制御信号を 0 V とする期間は、配向制御信号を 5 V としていた期間と同じ T 秒とした。これは、配向制御光 117 の出力が一定という条件下では、溶液中のフリー分子 20 およびバインディング分子 22 の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間は、配向制御信号を 0 V から 5 V とした場合と、配向制御信号を 5 V から 0 V にした場合とで、ほぼ同じ時間がかかるためである。配向制御信号が 0 V から 5 V に変わって時間 T だけ経過し、配向制御信号が 0 V に戻り、時間 T だけ経過するまでが、生体分子検出装置 100 における測定の 1 周期である。すなわち、生体分子検出装置 100 における 1 周期の測定時間は $2T$ である。

[0120] なお、吸光度の時間変化が非常に緩やかなために、 i_f の値が明確に判別

できない場合においては、フリー分子 20 による吸光度の成分とバインディング分子 22 による吸光度の成分とをコンピュータシミュレーションによって分離し、 i_f の値を求めるようにしても良い。

[0121] 図 15 は、生体分子検出装置 100 における配向制御信号を複数周期に亘って示したグラフである。生体分子検出装置 100 は、図 15 に示すように、配向制御信号を所定の間隔で切り替えて上記 1 周期の測定を複数回行い、得られた複数の i_t 、 i_f および i_z の値を、それぞれ加算平均を行って、 i_t 、 i_f および i_z の値の平均値を求める。本実施の形態では、上記 1 周期の測定を 10 回行い、 i_t 、 i_f および i_z の値の平均値を求める。これにより、様々な要因により発生する測定結果のばらつきを平均化している。

[0122] CPU 132 は、得られた i_t 、 i_f 、 i_z の平均値から、バインディング分子 22 の濃度を算出する。具体的には、初めに測定値 S を、次式 (1) によって求める。

$$S = (i_t - i_f) / (i_t - i_z) \cdots (1)$$

[0123] 式 (1) において、 $(i_t - i_f)$ は、バインディング分子 22 が配向方向を切り替えることに伴い増加した吸光度を求めている。 $(i_t - i_z)$ は、得られた吸光度の最大値から測定当初の吸光度を減ずることにより、フリー分子 20 およびバインディング分子 22 が配向方向を切り替えることに伴い増加した吸光度を求めている。 $(i_t - i_f)$ を $(i_t - i_z)$ で除算することにより、光学系変動等の測定結果の再現性を悪化させる要因をキャンセルしている。

[0124] CPU 132 は、ここで求めた測定値 S から、診断値 C (検出対象物質の濃度) を求める。診断値 C は、次式 (2) によって求める。

$$C = f(S) \cdots (2)$$

[0125] ここで、 $f(S)$ は、検量線関数である。あらかじめ既知の複数濃度の標準検体を用いてスペクトルと濃度との関係を取得しておき、この関係を基にスペクトル変化と濃度との関数を示す検量線関数を求めておけば、スペクトルの変化から検出対象物質の濃度を求めることができる。生体分子検出装置

100は、測定項目ごとに異なる検量線関数を記憶しておき、測定値Sを診断値Cに変換する。CPU132は、得られた診断値Cを表示部102へ出力する。このように、受光部124、増幅部126、A/D変換部128およびCPU132が協働することで、吸光度を測定して生体分子を検出する検出手段となる。

[0126] 以上説明したように、本発明の実施の形態1に係る生体分子検出装置100によれば、配向制御光117の照射方向の切り替えにより、溶液中のフリー分子20の配向方向およびバインディング分子22の配向方向を切り替えることが可能な構成とした。配向制御光117により切り替えるフリー分子20の配向方向およびバインディング分子22の配向方向は、フリー分子20に付随するナノロッド8の長軸方向およびバインディング分子22に付随するナノロッド8の長軸方向が、吸光度測定光119の振動方向に対して平行な方向と、垂直な方向である。すなわち生体分子検出装置100は、配向制御光117の照射方向の切り替えにより、フリー分子20およびバインディング分子22の1分子あたりの吸光度を切り替える。また、フリー分子20およびバインディング分子22は、配向制御光117の照射方向の切り替えに伴う配向方向の切り替えに要する時間に差が生じるため、それぞれの分子の吸光度が増加するタイミングが異なる。従って生体分子検出装置100は、溶液中のバインディング分子に付随したナノロッドによる吸光度への寄与分を算出することができ、簡便な構成で検出対象物質の濃度を正確に測定することができる。

[0127] また、以上の構成において、生体分子検出装置100は、配向制御光117による外力によって、フリー分子20の配向およびバインディング分子22の配向を全て同じ方向に制御するため、ブラウン運動というランダムな運動を利用して測定する場合に比べて、高感度な測定をすることができる。

[0128] なお、本実施の形態では、抗原抗体反応を利用する場合を例にとって説明したが、検出対象物質と、検出対象物質に特異的に結合する物質との組み合わせは、抗原、抗体に限られず、例えば、抗原を用いて抗体を検出する場合

や、特定のDNAを用いて当該DNAとハイブリダイゼーションをするDNAを検出する場合、DNAを用いてDNA結合性たんぱく質を結合する場合、リガンドを用いてレセプターを検出する場合、糖を用いてレクチンを検出する場合、プロテアーゼ検出を利用する場合、高次構造変化を用いる場合等がある。検出対象物質と検出対象物質に特異的に結合する物質の組み合わせが、抗原と抗体以外の場合においても、検出対象物質に特異的に結合する物質とナノロッドとを結合させてフリー分子を構成し、フリー分子と検出対象物質とを結合させてバインディング分子を構成すれば、本実施の形態に係る生体分子検出装置により検出対象物質の濃度を測定することができる。

[0129] また、本実施の形態では、測定結果から検出対象物質の濃度の算出までの説明を容易にするため、測定結果のグラフを模式的な図とした場合における検出対象物質の算出の説明を行ったが、必ずしもこのように算出する必要はなく、例えば、グラフ中の変曲点に基づいて、フリー分子による吸光度が飽和した点を決定して検出対象物質の濃度の算出を行っても良い。

[0130] また、配向制御信号を5Vと0Vとの間で切り替える際の時間間隔は、フリー分子やバインディング分子の体積、溶媒の粘度、溶液の温度等に基づいて変化させることが望ましい。すなわち、フリー分子が、配向制御光の照射方向の切り替わりにより配向方向が変化し始め、その切り替わりが完了するまでに要する時間は、フリー分子の体積、溶媒の粘度、溶液の温度、溶液中におけるフリー分子の回転しやすさ等によって決まる。また、バインディング分子が配向方向の切り替わりに要する時間も、バインディング分子の体積、溶媒の粘度、溶液の温度、溶液中におけるバインディング分子の回転しやすさ等によって決まる。例えば、検体の粘度が高い場合等、フリー分子が溶液中で回転しにくい場合は、フリー分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間が長くなるため、配向制御信号を5Vまたは0Vとする期間を、フリー分子の配向方向の切り替えが完了する程度まで長くすることが望ましい。バインディング分子の配向方向の切り替えについても同様のことが言える。ここで、フリー分子およびバインディング分子の双方の配向方向の

切り替えが完了するまでに要する時間は、吸光度測定の結果に基づいて決定することができる。例えば、図 14 においては、吸光度が最大値となった時刻 T_4 から初めに配向制御信号を 5 V にした時刻 T_1 を減算すること、すなわち $T_4 - T_1$ を行うことにより、フリー分子およびバインディング分子の双方の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間を求めることができる。

[0131] また、本実施の形態では、配向制御光 117 として波長 1000 nm、出力 700 mW のレーザーを用いたが、配向制御光 117 はこのレーザーに限られない。配向制御光 117 の波長および出力強度は、フリー分子およびバインディング分子の体積、質量等、これらに起因する溶液中での回転しやすさに基づいて決定することが望ましい。配向制御光 117 の波長は、フリー分子およびバインディング分子を配向させることができ、吸光度測定に影響を与えない波長であれば何でも良い。また、レーザーの出力は、フリー分子とバインディング分子との間に、配向方向の切り替えに要する時間に差が表れる程度の出力とすることが望ましい。

[0132] また、本実施の形態では、吸光度測定光 119 に波長 905 nm、出力 0.1 mW の光を用いたが、吸光度測定光 119 に用いる光はこの光に限られない。吸光度測定光 119 の波長は、ナノロッドの配向方向の変化に伴い吸光度に変化が生じる波長であれば良いが、ナノロッドによる吸光度が最大となる波長の光を用いることが望ましい。ナノロッドによる吸光度が最大となる波長の光を使用して吸光度測定を行うと、ナノロッドの配向方向の変化に伴い吸光度が最も大きく変化するため、フリー分子とバインディング分子を分離して算出することが容易となる。また、吸光度測定光 119 の出力は、吸光度測定が可能な出力であれば何でも良い。また、光源部 118 はランプと干渉フィルタの組み合わせによって構成しても良い。

[0133] なお、本実施の形態では、繰り返し測定を行って測定結果の加算平均を求めたが、加算平均は必ずしも行う必要はなく、ユーザーが何を重視するかによって決定すれば良い。例えば、ユーザーが素早く測定を行いたい場合は、

測定を1周期のみ行って結果を表示すれば良い。また、ユーザーがより高精度な測定を行いたい場合は、何周期かに亘って測定を行い、測定精度を向上させた結果を表示すれば良い。

[0134] なお、図2AおよびBでは、説明を分かりやすくするためにナノロッド8を円柱で示したが、実際のナノロッド8は完全な円柱状の形状とは限らない。また、ナノロッド8は、吸光度測定光の振動方向に対する長軸方向の向きにより、吸光度に変化が現れる形状であれば良い。

[0135] (実施の形態2)

実施の形態2は、2種類の抗体を使用し、均一溶液中で検出対象物質である特定の2種類の抗原を検出する態様である。図16AおよびBは、本発明の実施の形態2に係る生体分子検出装置の抗原抗体反応の概要を示した模式図である。ここでは、試薬カップ108の中に、抗体32および抗体34が入れている。抗体32は、ナノロッド36と結合してフリー分子を形成している（以下、フリー分子Aという）。抗体34は、ナノロッド38と結合してフリー分子を形成している（以下、フリー分子Bという）。

[0136] 試薬カップ108の中に検体16を入れて攪拌すると、抗体32と特異的に結合する抗原44が検体中に存在する場合は、フリー分子Aと抗原44との間で抗原抗体反応が起こり、抗体32および抗原44が特異的に結合する。同様に抗体34と特異的に結合する抗原46が検体中に存在する場合は、フリー分子Bと抗原46との間で抗原抗体反応が起こり、抗体34および抗原46が特異的に結合する。実施の形態1で説明した場合と同様に、一部の抗体32および抗体34は、抗原抗体反応をしないまま溶液中に存在する。以下、抗原抗体反応をしたフリー分子Aおよび抗原44の複合体をバインディング分子Aと呼び、抗原抗体反応をしたフリー分子Bおよび抗原46の複合体をバインディング分子Bと呼ぶ。本実施の形態では、検出対象物質である抗原44はPSA、抗原46はSCC (Squamous Cell Carcinoma) 抗原とする。また、抗体32としてPSAと特異的に結合する抗PSA抗体を用い、抗体34としてSCC抗原と特異的に結合する

S C C抗体を用いる。

[0137] 図17AおよびBは、バインディング分子Aおよびバインディング分子Bをナノロッド36およびナノロッド38の上方から見た図である。ナノロッド36とナノロッド38とは、長軸方向の長さが異なり、ナノロッド38の方が長軸方向の長さが長い。本実施の形態では、ナノロッド36には短軸10nm、長軸50nmの金ナノロッドを使用する。また、ナノロッド38には短軸10nm、長軸60nmの金ナノロッドを使用する。

[0138] 図18は、光の波長に対するナノロッド36またはナノロッド38による吸光度の変化を描いたグラフである。グラフ50は、ナノロッド36による吸光度を表したグラフである。グラフ52は、ナノロッド38による吸光度を表したグラフである。一般的にナノロッドは、長軸方向の長さが長いほど、長軸方向由来のプラズモン共鳴波長が長波長側に現れる。この例では、ナノロッド36の長軸方向由来のピークが波長900nm付近に表れる。また、ナノロッド38の長軸方向由来のピークは、波長1000nm付近に現れる。なお、ここでは説明を容易にするためグラフを模式的に示してある。

[0139] 本発明の実施の形態2に係る生体分子検出装置は、2種類のフリー分子と2種類のバインディング分子とが混在する溶液に吸光度測定光を照射し、2種類の検出対象物質それぞれの検出または定量を行う。以下、本実施の形態に係る生体分子検出装置について詳細に説明する。

[0140] 図19は、本発明の実施の形態2に係る生体分子検出装置200の主要な構成を示すブロック図である。なお、実施の形態1で示した生体分子検出装置100と同一の構成要素には同一の符号を付し、その説明を省略する。

[0141] 生体分子検出装置200は、実施の形態1で示した生体分子検出装置100の構成に対して、光源部201、受光部202、分注部204、試薬タンク206およびCPU208が主に異なる。

[0142] 分注部204は、複数の抗体がそれぞれ別の容器に入った試薬タンク206からユーザーによって指定された抗体を吸い上げ、試薬カップ108内へ分注する。

[0143] 光源部201は、内部に備えた偏光子により直線偏光した光を試薬カップ108に向けて照射する。光源部201は、波長905nmの光と波長1.1 μ m(1100nm)の光とから照射する光を選択することができる光源である。光源部201の出力は0.1mWである。光源部201が照射することができる2種類の波長は、それぞれナノロッド36の長軸方向由来のピークが現れる付近の波長と、ナノロッド38の長軸方向由来のピークが現れる付近の波長である。以下、光源部201から照射される光を吸光度測定光209という。

[0144] 受光部202は、試薬カップ108を透過した吸光度測定光209を受光する。受光部202は、CPU208から出力される命令(S1)を受けて、吸光度測定光209の波長に応じたフィルタを用いて吸光度測定光209を受光するように構成されている。受光部202の詳細な構成については後述する。

[0145] CPU208は、A/D変換部128から出力されたデジタルデータの演算を行い、その結果を表示部102へ出力する。また、CPU208は、ユーザー入力部104から入力される信号に基づき、配向制御用光源部116、光源部201、分注部204、FG122および受光部202の各々の動作に対する指示命令を行う。具体的には、CPU208は、配向制御用光源部116および光源部201に対し、オン/オフ命令を行う。また、分注部204に対して、使用する試薬を指定する命令および分注動作開始命令を行う。さらに、FG122に対して、出力する信号波形の指示命令および出力命令を行う。また、受光部202に対してフィルタの切り替え命令を行う。

[0146] 受光部202の構成について、図20を用いて詳細に説明する。図20は、実施の形態2に係る生体分子検出装置200における受光部202の詳細な構成を表した模式図である。

[0147] 受光部202内のフィルタ切替部210は、フィルタ212およびフィルタ214の2種類のフィルタを備えている。この2種類のフィルタは可動式となっており、レンズ142によって集光された光が通るフィルタを切り替

えることができる。フィルタ切替部 210 は、CPU 208 からの命令 (S1) を受信して、光源 201 から照射されている吸光度測定光 209 の波長に合わせて使用するフィルタを切り替える。具体的には、レンズ 142 で集光された光が通る位置に使用するフィルタを移動させ、使用しないフィルタを光が通らない位置に退避させる。本実施の形態では、フィルタ 212 は、波長 905 nm の光を透過するバンドパスフィルタを用いる。フィルタ 214 は、波長 1.1 μ m の光を透過するバンドパスフィルタを用いる。CPU 208 は、光源部 201 に波長 905 nm の光を照射させる場合はフィルタ 212 を使用する命令を受光部 202 に出力する。また、CPU 208 は、光源部 201 に波長 1.1 μ m の光を照射させる場合はフィルタ 214 を使用する命令を受光部 202 に出力する。この構成により、吸光度測定光 209 に用いた波長以外の光が受光部 202 に入射することを防ぎ、ノイズを減少させることができる。

[0148] 本実施の形態においても、AOD 120 による配向制御光 117 の照射方向の切り替えは、ナノロッド 36 およびナノロッド 38 の長軸方向由来の吸光度を最大と最小との間で切り替える。図 21 は、ナノロッド 36 およびナノロッド 38 の配向方向の切り替えに伴う吸光度の変化を示したグラフである。図 21 において、曲線 50 は波長の変化に対するナノロッド 36 による吸光度を表したグラフである。曲線 52 は波長の変化に対するナノロッド 38 による吸光度を表したグラフである。なお、図 21 のグラフは説明を容易にするために模式的に描いてある。

[0149] 本実施の形態に用いたナノロッド 36 の波長 900 nm 付近の光に対する吸光度は、ナノロッド 36 の長軸方向の向きが吸光度測定光 209 の振動方向に対して平行方向に近づくほど増加する。図 21 には、ナノロッド 36 の配向方向の切り替えに伴う吸光度の変化を、破線で示す曲線 54 によって示す。また、ナノロッド 38 の波長 1.1 μ m 付近の光に対する吸光度は、ナノロッド 38 の長軸方向の向きが吸光度測定光 209 の振動方向に対して平行方向に近づくほど増加する。図 21 には、ナノロッド 38 の配向方向の切

り替えに伴う吸光度の変化を、破線で示す曲線 5 6 によって示す。

[0150] ナノロッド 3 6 においてもナノロッド 3 8 においても、吸光度測定光 2 0 9 の振動方向とナノロッドの長軸方向とが垂直の場合に吸光度が最小となり、吸光度測定光 2 0 9 の振動方向とナノロッドの長軸方向とが平行の場合に吸光度が最大となる。しかし、ナノロッド 3 6 の長軸方向由来の吸光度のピークが現れる波長と、ナノロッド 3 8 の長軸方向由来の吸光度のピークが現れる波長とは十分離れている。また、ナノロッド 3 6 およびナノロッド 3 8 の吸光度スペクトルにおいて、ピーク付近の吸光度以外は配向の変化に伴う変化が非常に少ない。そのため、ナノロッド 3 6 を含むフリー分子およびバインディング分子を測定する場合は、吸光度測定光 2 0 9 として波長 9 0 0 n m 付近の光を用いるとナノロッド 3 8 の影響を無視して吸光度測定を行うことができる。同様に、ナノロッド 3 8 を含むフリー分子およびバインディング分子を測定する場合は、吸光度測定光 2 0 9 として波長 1. 1 μ m 付近の光を用いる。このように、複数種類のフリー分子およびバインディング分子が混在していても、ナノロッドの長軸方向由来のピークが表れる波長が異なるので、所望のフリー分子およびバインディング分子の各々の吸光度を測定することができる。

[0151] 本実施の形態に係る生体分子検出装置 2 0 0 は、実施の形態 1 と同様に、配向制御光の照射に伴いフリー分子が配向を完了するまでに要する時間とバインディング分子が配向を完了するまでに要する時間との差を利用して測定を行う。すなわち、配向制御光を照射することにより、フリー分子に付随するナノロッドによる吸光度ナノロッドの吸光度が変化するタイミングとバインディング分子に付随するナノロッドの吸光度が変化するタイミングとの差を生じさせる。そして、溶液の吸光度の時間変化から、バインディング分子に付随したナノロッドによる吸光度への寄与分を算出し、検出対象物質の定量を行う。吸光度測定においては、測定する対象のフリー分子およびバインディング分子の双方に付随するナノロッドの長軸方向由来の吸光度が現れる波長帯の光を用いる。

- [0152] 続いて生体分子検出装置 200 の測定動作について説明する。生体分子検出装置 200 の測定動作は、実施の形態 1 で説明した生体分子検出装置 100 の測定動作と基本的には同じであるが、細かな点で異なる。フリー分子とバイディング分子が混在した溶液からバイディング分子を分離して検出する原理については実施の形態 1 で説明したため、ここでは溶液中に混在する 2 種類のバイディング分子から目的のバイディング分子のみを検出する原理について説明する。
- [0153] 生体分子検出装置 200 は、初めに 2 種類のバイディング分子のどちらを先に検出するか決定する。例えば、生体分子検出装置 200 を使用するユーザーが、ユーザー入力部 104 を用いて任意に決定することができる。
- [0154] ここでは、ナノロッド 36 を有するバイディング分子 A から先に測定を行う場合を説明する。CPU 208 は、受光部 202 内のフィルタ切替部 210 に、フィルタ 212 の使用を指示する命令を出力する。フィルタ切替部 210 は、CPU 208 からの命令を受信し、レンズ 142 で集光された光が通る位置にフィルタ 212 を移動させる。また、CPU 208 は、光源部 201 に、波長 905 nm の吸光度測定光 209 を照射する命令を出力する。
- [0155] 試薬カップ 108 に向けて吸光度測定光 209 が照射されると、溶液内のナノロッド 36 は、吸光度測定光 209 と局在表面プラズモン共鳴を起こし吸光度測定光 209 を吸収する。また、ナノロッド 38 も同様に吸光度測定光 209 を吸収するが、その割合はナノロッド 36 に比べると無視できるほど少ない。
- [0156] 吸光度測定光 209 は、ナノロッド 36 により吸収され弱められながら溶液を透過し、受光部 202 へ入射する。吸光度測定光 209 は、レンズ 142 によって集光され、フィルタ 212 へ入射する。フィルタ 212 は 905 nm の波長の光を通すため、吸光度測定光 209 はフィルタ 212 を透過してフォトダイオード 150 に到達する。光源部 201 から照射された当初の吸光度測定光 209 の出力と、フォトダイオード 150 で受光された吸光度

測定光 209 の出力とから、配向制御信号が 0 V の場合におけるナノロッド 36 による吸光度測定光 209 の吸光度 $i_z 1$ が測定される。

[0157] 生体分子検出装置 200 によって試薬カップ 108 内の溶液の吸光度測定を行った結果を図 22 A および B に示す。なお、ここでは説明を容易にするためグラフを模式的に示してある。

[0158] 図 22 A は試薬カップ 108 内の溶液による波長 905 nm の光の吸光度の時間に対する変化である。この吸光度は、主にナノロッド 36 による吸光度である。T 11 での測定の開始に伴い、フリー分子 A およびバインディング分子 A の双方の配向が変化して吸光度は増加していく。フリー分子 A の方がバインディング分子 A に比べて速く配向方向の切り替えが完了し、時刻 T 12 で全てのフリー分子 A の配向方向の切り替えが完了すると、波長 905 nm の光の吸光度は、値 $i_f 1$ で飽和する。その後、吸光度のグラフは時刻 T 13 で再び増加する。T 14 でバインディング分子 A の配向方向の切り替えが完了すると、波長 905 nm の光の吸光度は値 $i_t 1$ で飽和する。T 15 で配向制御信号が 0 V になると、波長 905 nm の光の吸光度は、時刻 T 15 からやや遅れて $i_z 1$ となる。

[0159] 生体分子検出装置 200 は、配向制御信号を所定の間隔で切り替えて上記 1 周期の測定を複数回行い、得られた複数の $i_z 1$ 、 $i_f 1$ および $i_t 1$ の値をそれぞれ加算平均して、 $i_z 1$ 、 $i_f 1$ および $i_t 1$ の値の平均値を求める。

[0160] 続いて、CPU 208 は、得られた $i_z 1$ 、 $i_f 1$ および $i_t 1$ の平均値から、バインディング分子 A の濃度を算出する。具体的には、実施の形態 1 で測定値 S を求めた場合と同じ演算を行い、測定値 S 1 を求める。そして、検量線関数 $f 1 (S)$ を用いて、測定値 S 1 から濃度 C 1 に変換する。CPU 208 は、得られた濃度 C 1 を表示部 102 へ出力する。

[0161] 次に、生体分子検出装置 200 は、バインディング分子 B の測定を行う。CPU 208 は、受光部 202 内のフィルタ切替部 210 に、フィルタ 214 の使用を指示する命令を出力する。フィルタ切替部 210 は、CPU 20

8からの命令を受信し、レンズ142で集光された光が通る位置にフィルタ214を移動させる。また、CPU208は、光源部201に、波長 $1.1\mu\text{m}$ の吸光度測定光209を照射する命令を出力する。

[0162] 図22Bは試薬カップ108内の溶液による波長 $1.1\mu\text{m}$ の光の吸光度の時間に対する変化である。この吸光度は、主にナノロッド38による吸光度である。

[0163] 配向制御信号が0Vの場合におけるナノロッド38による吸光度測定光209の吸光度は i_z2 を示す。T21での測定の開始に伴い、フリー分子Bおよびバインディング分子Bの双方の配向方向が変化して吸光度は増加する。フリー分子Bの方がバインディング分子Bに比べて速く配向方向の切り替えが完了するため、時刻T22で全てのフリー分子Bの配向方向の切り替えが完了すると、波長 $1.1\mu\text{m}$ の光の吸光度は値 i_f2 で飽和する。その後、吸光度のグラフは時刻T23で再び増加し、T24でバインディング分子Aの配向方向の切り替えが完了すると、波長 $1.1\mu\text{m}$ の光の吸光度は値 i_t2 で飽和する。T25で配向制御信号が0Vになると、波長 $1.1\mu\text{m}$ の光の吸光度は、時刻T25からやや遅れて i_z2 となる。

[0164] 生体分子検出装置200は、配向制御信号を所定の間隔で切り替えて上記1周期の測定を複数回行い、得られた複数の i_z2 、 i_f2 および i_t2 の値をそれぞれ加算平均して、 i_z2 、 i_f2 および i_t2 の値の平均値を求める。

[0165] バインディング分子Bを測定する場合の配向制御信号の切り替えタイミングは、バインディング分子Aを測定する場合と異なる。これは、バインディング分子A、フリー分子A、バインディング分子Bおよびフリー分子Bそれぞれの体積および質量が異なり、それぞれの分子が配向を完了するまでに要する時間が異なるためである。

[0166] 図22AおよびBに示したように、バインディング分子Aを測定する場合と、バインディング分子Bを測定する場合とでは、吸光度が増加したり飽和したりするタイミングは異なる。これは、バインディング分子Aとバインデ

ィング分子Bとの、体積の違いによる溶液中での運動しやすさに起因する。

[0167] 続いて、CPU208は、得られた i_z^2 、 i_f^2 および i_t^2 の平均値から、バインディング分子Bの濃度を算出する。具体的には、実施の形態1で測定値Sを求めた場合と同じ演算を行い、測定値S2を求める。そして、検量線関数 $f^2(S)$ を用いて、測定値S2から濃度C2に変換する。CPU208は、得られた濃度C2を、表示部102へ出力する。

[0168] 以上説明したように、本発明の実施の形態2に係る生体分子検出装置200によれば、実施の形態1で説明した生体分子検出装置100の構成に加え、2種類のナノロッドを用い、フィルタ切替部210を2種類のフィルタの切り替えが可能な構成とした。2種類のナノロッドは、配向方向の切り替えに伴う長軸方向由来の吸光度の変化が現れる波長が異なる。そのため、検出対象物質を含むバインディング分子に付随するナノロッドに対応した波長の光を吸光度測定光として使用することにより、検出対象物質を含むバインディング分子の吸光度のみを測定することができる。すなわち、複数の成分が混在した検体から検出対象物質の濃度を正確に測定することができる。このように、一つの検体から複数の検出対象物質を検出することは、免疫診断の精度を上げるために重要である。

[0169] なお、本実施の形態では、2種類のナノロッドとして短軸10nm、長軸50nmの金ナノロッドおよび短軸10nm、長軸60nmの金ナノロッドを用いたが、測定に用いるナノロッドはこの長さまたはアスペクト比のものに限られない。2種類のナノロッドとしては、一方のナノロッドの吸光度のみを測定できる程度に長軸方向由来のプラズモン共鳴波長に差があるものを用いれば良い。

[0170] また、本実施の形態では、配向制御光117に波長1000nm、出力700mWのレーザーを用いたが、配向制御光117はこのレーザーに限られない。配向制御光117の出力は、フリー分子の体積および質量ならびにバインディング分子の体積および質量等に起因する溶液中での回転しやすさに基づいて決定することが望ましい。配向制御光117の波長は、フリー分子

およびバインディング分子を配向させることができ、吸光度測定に影響を与えない波長であれば何でも良い。

[0171] また、本実施の形態では、吸光度測定光 209 に波長 905 nm、出力 0.1 mW の光および波長 1.1 μ m、出力 0.1 mW の光を用いたが、吸光度測定光 209 に用いる光はこれらの光に限られない。吸光度測定光 209 の波長は、ナノロッドの配向方向の変化に伴い吸光度に変化が生じる波長であれば良いが、ナノロッドによる吸光度が最大となる波長の光を用いることが望ましい。ナノロッドによる吸光度が最大となる波長の光を用いて吸光度測定を行うと、ナノロッドの配向方向の変化に伴い吸光度が最も大きく変化するため、フリー分子とバインディング分子を分離して算出することが容易となる。また、吸光度測定光 209 の出力は、吸光度測定が可能な出力であれば何でも良い。また、光源部 201 はランプと干渉フィルタの組み合わせによって構成しても良い。

[0172] なお、本実施の形態では、抗原抗体反応を利用する場合を例にとって説明したが、検出対象物質と、検出対象物質に特異的に結合する物質との組み合わせは、抗原、抗体に限られず、例えば、抗原を用いて抗体を検出する場合や、特定の DNA と当該 DNA とハイブリダイゼーションをする DNA、DNA と DNA 結合性たんぱく質、リガンドとレセプター、糖とレクチン、プロテアーゼ検出、高次構造変化等を用いても良い。検出対象物質と検出対象物質に特異的に結合する物質の組み合わせが、抗原および抗体以外の場合においても、検出対象物質に特異的に結合する物質とナノロッドとを結合させてフリー分子を構成し、フリー分子と検出対象物質とを結合させてバインディング分子を構成すれば、本実施の形態に係る生体分子検出装置により検出対象物質の濃度を測定することができる。

[0173] また、本実施の形態では検出対象物質が 2 種類の場合について説明したが、検出対象物質の種類は 3 種類以上でも良い。その場合においても、各検出対象物質と特異的に結合する物質を用い、それぞれ異なったアスペクト比を有するナノロッドと結合させて同様の測定を行うと、各検出対象物質の濃度

を測定することができる。

[0174] また、実施の形態 1 や実施の形態 2 において、配向制御光として直線偏光された光を用いて偏光軸を回動させ、これによりフリー分子およびバインディング分子を配向させるような態様としても良い。直線偏光された光を照射されたフリー分子および直線偏光された光を照射されたバインディング分子は、光の偏光軸によって決まる特定の方向に配向する。配向制御光として直線偏光された光を用いる場合は、AODの代わりに $\lambda/2$ 波長板を用いることができる。 $\lambda/2$ 波長板は、垂直な方向に振動する光の光路差を $1/2$ 波長変化させる機能を有する位相板であり、光の偏光軸を回動操作するために用いられる。 $\lambda/2$ 波長板の光学軸方向と平行な方向に直線偏光した光は $\lambda/2$ 波長板を素通りするが、 $\lambda/2$ 波長板の光学軸方向と45度の角度をなす方向に直線偏光した光は偏光軸が90度回動する。つまり、直線偏光した光に対する $\lambda/2$ 波長板の角度を切り替えることにより、光を素通りさせる場合と、光の偏光軸を90度変化させる場合とを切り替えることができる。すなわち、 $\lambda/2$ 波長板を用いて直線偏光した光の偏光軸を回動させることにより、フリー分子およびバインディング分子を2つの方向へ配向させることができる。

[0175] なお、実施の形態 1 および実施の形態 2 では、直線偏光した吸光度測定光を溶液に照射する場合、すなわち偏光面が単一の吸光度測定光を溶液に照射する場合を例にとって説明したが、吸光度測定光は必ずしも単一の偏光面を有する直線偏光した光である必要はない。実施の形態 1 および実施の形態 2 の効果を奏するためには、吸光度測定光が特定方向の直線偏光成分を少なくとも1つ有していれば良い。ここで、特定方向の直線偏光成分を有する光とは、ナノロッドの配向方向の変化により、ナノロッドと特定方向の直線偏光成分との向きの関係が変化して、特定方向の直線偏光成分に対してナノロッドによる吸光度に変化が生じる光である。例えば、ランダム偏光した吸光度測定光を照射し、受光部の前に検光子を設けて特定方向の直線偏光成分のみを受光するように構成しても良い。ここでランダム偏光とは、光の振動方向

がランダムであり、様々な方向に振動する成分が存在することをいう。

[0176] 図23Aおよび図23Bは、それぞれ配向制御光134、136を照射した際のナノロッド8の配向方向とランダム偏光した吸光度測定光218の振動方向とを表した概念図である。配向制御光134は、配向制御光136に対して照射方向が90度異なる。吸光度測定光218の振動方向220a～220dは、吸光度測定光218の進行方向に対して垂直な平面内における光の振動方向を表す。図23Aおよび図23Bでは、振動方向220a～220dによって吸光度測定光218の振動方向が様々な方向であることを表しているが、実際は、図示した成分だけでなく、あらゆる角度方向のより多くの成分が含まれている。

[0177] 検光子216は、ナノロッド8を透過した吸光度測定光218のうち特定の方向に振動する成分を透過し、それ以外の方向に振動する成分を遮断する。換言すれば、検光子216を透過した光は特定の方向にのみ振動する光となる。検光子216が透過する特定の方向に振動する成分とは配向制御光134によって配向したナノロッド8の長軸方向と同一の方向に振動する成分である。検光子216を透過した吸光度測定光218の振動方向は、図23AおよびBにおいて振動方向220aとなる。これにより、図23Aに示すように、ナノロッド8を透過した吸光度測定光218のうち、配向制御光134によって配向したナノロッド8の長軸方向と同一の方向に振動する成分のみをフォトダイオード150に到達させることができる。一方、図23Bに示すように、配向制御光134と照射方向が90度異なる配向制御光136によって配向したナノロッド8の長軸方向に対しては、垂直な方向に振動する成分のみがフォトダイオード150に到達する。このような構成にすることで、吸光度測定光218としてランダム偏光した光を用いても、直線偏光した吸光度測定光を照射した場合と同様に、特定の方向に振動する光に対する溶液の吸光度測定を行うことができる。なお、検光子216が透過させる特定の方向に振動する成分とは必ずしもここで示した方向に振動する成分に限られず、ナノロッド8の配向方向の変化に伴いナノロッド8による吸光

度に差が生じる成分であれば何でも良い。

[0178] また、図 2 3 A および図 2 3 B では吸光度測定光がいずれの方向に振動する場合においても振幅が一定である例を示したが、必ずしも全ての方向において振幅が一定である必要はない。フォトダイオード 1 5 0 が受光する成分は特定方向に振動する成分のみであるので、その他の方向に振動する成分は遮断される。

[0179] 図 2 3 B に示す配向制御信号が 0 V の場合、配向制御光 1 3 6 により配向したナノロッド 8 の長軸方向と検光子 2 1 6 を透過可能な光の振動方向とは垂直となる。この場合、吸光度測定光 2 1 8 の各方向に振動する成分のうち検光子 2 1 6 を透過可能な方向に振動する成分は、ナノロッド 8 に吸収されにくい。

[0180] 一方、図 2 3 A に示す配向制御信号が 5 V の場合、配向制御光 1 3 4 により配向したナノロッド 8 の長軸方向と検光子 2 1 6 を透過可能な光の振動方向とは平行となる。この場合、吸光度測定光 2 1 8 の各方向に振動する成分のうち検光子 2 1 6 を透過可能な方向に振動する成分はナノロッド 8 に吸収されやすい。

[0181] このような構成とした場合においても、配向制御信号を 0 V から 5 V に変化させると、ナノロッド 8 の配向方向が変化し、ナノロッド 8 の長軸方向と検光子 2 1 6 が透過可能な光の振動方向とが徐々に平行に近づく。それに伴い、検光子 2 1 6 を透過可能な方向に振動する光に対するナノロッド 8 の吸光度が増加し、溶液の吸光度は増加する。この場合、フリー分子とバインディング分子とでは、配向を完了するまでに要する時間が異なるため、吸光度が増加して飽和するタイミングも異なる。そのため、このような構成とした場合においても、配向制御信号を 0 V から 5 V に変化させた際の、時間に対する溶液の吸光度の変化のグラフは、図 1 4 と同様の形状となる。つまり、この場合においても溶液の吸光度のグラフについて実施の形態 1 と同様の計算を行うことにより、検出対象物質の濃度を測定することができる。

[0182] (実施の形態 3)

図24Aは、生体分子検出装置300の主要な構成を説明するための機能ブロック図である。図24Bは、光源部304および配向制御用光源部322と第1の受光部306との位置関係を表した図である。図24Bにおいては、説明に使用する構成を図24Aから抜き出して描いてあり、その他の構成は省略して示している。なお、図24Aおよび図24Bにおいて、実施の形態1と同一の構成要素には同一の符号を付し、その説明を省略する。

[0183] 光源部304は、内部に備えた偏光子により2つの直交する方向に振動する成分のみを有する吸光度測定光312を、図24Bに示すように、試薬カップ108の底面から試薬カップ108の上方に設けられた第1の受光部306に向けて照射する。吸光度測定光312には、波長905nm、出力0.1mWの光を用いる。

[0184] 偏光ビームスプリッタ310は、試薬カップ108と第1の受光部306との間に設けられている。偏光ビームスプリッタ310は、試薬カップ108を透過した2つの直交する方向に直線偏光した吸光度測定光312のうち、一方の直線偏光成分314を透過し、他方の直線偏光成分316を直線偏光成分314とは90度異なる方向に反射する。

[0185] 第1の受光部306は、図24Bに示すように試薬カップ108の上方かつ試薬カップ108を挟んで光源部304の対面に設けられている。第1の受光部306は、内部にフォトダイオードを有する。第1の受光部306は、試薬カップ108および偏光ビームスプリッタ310を透過した直線偏光成分314をフォトダイオードで受光し、アナログ電気信号に変換して増幅部126へ出力する。また、第1の受光部306の内部にはバンドパスフィルタが設けられている。このバンドパスフィルタは、吸光度測定光312と同一の波長の光のみをフォトダイオードに到達させる。これにより、吸光度測定光312と異なる波長の光がフォトダイオードに到達してノイズとなることを防いでいる。

[0186] 第2の受光部308は、偏光ビームスプリッタ310によって反射される直線偏光成分316の光路上に設けられている。第2の受光部308は、偏

光ビームスプリッタ 310 によって反射された直線偏光成分 316 を内部に設けられたフォトダイオードで受光し、アナログ電気信号に変換して増幅部 126 へ出力する。第 2 の受光部 306 の内部にはバンドパスフィルタが設けられている。このバンドパスフィルタは、吸光度測定光 312 と同等の波長を持つ光のみをフォトダイオードに到達させる。

[0187] FG 318 は、様々な周波数と波形をもった電圧信号を発生させることのできる装置であり、CPU 320 から出力される命令を受けて、偏光方向制御部 324 およびサンプリングクロック発生部 130 へそれぞれ異なる電圧信号を出力する。以下、FG 318 から偏光方向制御部 324 へ出力される信号を偏光方向制御信号という。

[0188] 配向制御用光源部 322 は、図 24B に示すように試薬カップ 108 の下部に設けられ、内部に備えた偏光子により直線偏光した配向制御光 326 を、偏光方向制御部 324 を通って試薬カップ 108 の底面から上方に向けて照射し、試薬カップ 108 内の溶液中に存在するフリー分子およびバインディング分子に外力を加えてこれらの配向を制御する。配向制御光 326 には、波長 $1.3\ \mu\text{m}$ 、出力 700 mW のレーザーを用いる。配向制御光 326 は、試薬カップ 108 の溶液全体を照らす程度の幅を有している。

[0189] 偏光方向制御部 324 は、配向制御光 326 の偏光方向（振動方向）を切り替えることで、フリー分子およびバインディング分子の配向方向を切り替える。偏光方向制御部 324 は、 $\lambda/2$ 波長板を有する。 $\lambda/2$ 波長板は、垂直な方向に振動する偏光の光路差を $1/2$ 波長変化させる機能を有する位相板であり、光の偏光面を回転操作するために用いられる。 $\lambda/2$ 波長板の光学軸方向と平行な方向に直線偏光した光は $\lambda/2$ 波長板を素通りするが、 $\lambda/2$ 波長板の光学軸方向と 45 度の角度をなす方向に直線偏光した光は振動方向が 90 度変化する。つまり、直線偏光した光に対する $\lambda/2$ 波長板の角度を切り替えることで、光を素通りさせる場合と、光の振動方向を 90 度変化させる場合とを切り替えることができる。 $\lambda/2$ 波長板は、電子式の $\lambda/2$ 波長板回転素子に保持されている。偏光方向制御部 324 は、FG 31

8から出力される偏光方向制御信号を受信して、専用のコントローラにより $\lambda/2$ 波長板回転素子を回動させることで $\lambda/2$ 波長板を回転させ、配向制御光326の振動方向を90度切り替える。換言すれば、配向制御光326の振動方向は、FG318が発生する電圧信号によって決まる。

[0190] CPU320は、生体分子検出装置300の各動作を統括的に制御し、測定結果の演算等を行う。CPU320は、FG318が出力する偏光方向制御信号を指定することで、偏光方向制御部324が配向制御光326の振動方向を切り替えるタイミングを制御する。

[0191] 図25Aおよび図25Bに示す概念図を用いて、配向制御光326の振動方向に対するナノロッドの配向方向と吸光度測定光312の振動方向との向きについて説明する。なお、図25Aおよび図25Bにおいては、説明に不要な要素は省略して描いてある。吸光度測定光312は、進行方向に対して垂直な平面内において振動方向330a、330bに振動する成分を有する。また、振動方向330aと振動方向330bは直交している。つまり、吸光度測定光312は互いに直交する2つの直線偏光成分を有する光である。

[0192] 図25Aは、偏光方向制御信号が0Vの場合の概念図である。偏光方向制御信号が0Vの場合、振動方向334に振動する配向制御光326が試薬カップ108に照射される。偏光方向制御信号が0Vの場合の配向制御光326の振動方向334と、吸光度測定光312の振動方向330aとは平行である。振動方向334の方向に振動する配向制御光326を照射されたナノロッド8は、振動方向334と同一の方向に長軸方向を向けて配向する。

[0193] 偏光ビームスプリッタ310は、吸光度測定光312のうち振動方向330aに振動する直線偏光成分314を透過し、振動方向330bに振動する直線偏光成分316を反射する。偏光ビームスプリッタ310を透過した直線偏光成分314は、第1の受光部306内に設けられたフォトダイオード340に到達する。偏光ビームスプリッタ310で反射した直線偏光成分316は、第2の受光部308内に設けられたフォトダイオード342に到達

する。

[0194] 図 2 5 B は、偏光方向制御信号が 5 V の場合の概念図である。偏光方向制御信号が 5 V の場合、振動方向 3 4 0 に振動する配向制御光 3 2 6 が試薬カップ 1 0 8 に照射される。偏光方向制御信号が 5 V の場合の配向制御光 3 2 6 の振動方向 3 4 0 と、吸光度測定光 3 1 2 振動方向 3 3 0 b とは平行である。振動方向 3 4 0 の方向に振動する配向制御光 3 2 6 を照射されたナノロッド 8 は、振動方向 3 4 0 と同一の方向に長軸方向を向けて配向する。

[0195] 図 2 6 は、縦軸が生体分子検出装置 3 0 0 における偏光方向制御信号の電圧または吸光度を表し、横軸が時間 t を表したグラフである。なお、ここでは説明を容易にするため、偏光ビームスプリッタを透過した配向制御光の吸光度、偏光ビームスプリッタで反射した配向制御光の吸光度および正規化した吸光度については、グラフを模式的に示してある。

[0196] 本実施の形態においても実施の形態 1 と同様に F G 3 1 8 から出力される偏光方向制御信号は、測定前は 0 V となっている。測定前においては、配向制御光 3 2 6 を試薬カップ 1 0 8 内の溶液中に照射して、フリー分子およびバインディング分子を同一方向に配向させておく。測定の開始に伴い、C P U 3 2 0 は、吸光度測定光 3 1 2 の照射を開始する命令を光源部 3 0 4 へ出力する。

[0197] 偏光ビームスプリッタ 3 1 0 で反射する直線偏光成分 3 1 6 に着目すると、直線偏光している方向と、ナノロッド 8 の長軸方向との関係は実施の形態 1 と同様になる。従って、試薬カップ 1 0 8 内の溶液による直線偏光成分 3 1 6 の吸光度の時間変化は、実施の形態 1 の図 1 4 に示したグラフと同様のグラフとなる。つまり、時刻 $T 3 1$ における配向制御光 3 2 6 の振動方向の変化に伴ってフリー分子およびバインディング分子の配向方向が切り替わり、直線偏光成分 3 1 6 に対するナノロッド 8 の吸光度が当初の値 $i z 3$ から増加するが、フリー分子が配向を完了することにより吸光度は時刻 $T 3 2$ において値 $i f 3$ で飽和する。その後、バインディング分子の配向方向が切り替わることに伴い時刻 $T 3 3$ で吸光度は再び増加し、全てのバインディング

分子が配向を完了した時刻 T_{34} において値 i_{t3} で飽和する。偏光方向制御信号は、5 V の出力が T 秒間続いた後 0 V となる。偏光方向制御信号が 5 V から 0 V に切り替わると、直線偏光成分 316 の吸光度は、しばらく i_{t3} の値であるが、その後 i_{z3} の値まで減少する。

[0198] 偏光ビームスプリッタ 310 を透過する直線偏光成分 314 に着目する。直線偏光成分 314 の振動方向とナノロッド 8 の長軸方向とが時刻 T_{31} までは平行であるため吸光度が最大となる。時刻 T_{31} における配向制御光 326 の振動方向の変化に伴ってフリー分子およびバインディング分子の配向方向が切り替わり、直線偏光成分 314 に対するナノロッド 8 の吸光度は当初の値 i_{t4} から減少する。フリー分子が配向を完了することにより吸光度は時刻 T_{32} において値 i_{f4} で一定となる。その後、バインディング分子の配向方向が切り替わることに伴い時刻 T_{33} で吸光度は再び減少し、全てのバインディング分子が配向を完了した時刻 T_{34} において値 i_{z4} で最小値となる。偏光方向制御信号は、5 V の出力が T 秒間続いた後 0 V となる。偏光方向制御信号が 5 V から 0 V に切り替わると、直線偏光成分 314 の吸光度は、しばらく i_{z4} の値であるが、その後 i_{t4} の値まで増加する。これは、直線偏光成分 314 の振動方向とナノロッド 8 の長軸方向が平行に戻るためである。

[0199] CPU 320 は、直線偏光成分 316 の吸光度を P_p 、直線偏光成分 314 の吸光度を P_v として、これらを次式 (3) に従って正規化する。

$$K = (P_p - P_v) / (P_p + P_v) \cdots (3)$$

このように、2つの吸光度を正規化することで、ナノロッド 8 の濃度ばらつきや、光学系の励起パワー変動などの影響を低減させることができる。

[0200] 正規化した吸光度のグラフから、バインディング分子の濃度を算出する。具体的には、測定値 S_3 を次式 (4) によって求める。

$$S_3 = (i_{t5} - i_{f5}) / (i_{t5} - i_{z5}) \cdots (4)$$

[0201] CPU 320 は、ここで求めた測定値 S_3 から、実施の形態 1 と同様にし検量線関数を用いて診断値 C_3 (検出対象物質の濃度) を求めて、得られ

た診断値C 3を表示部1 0 2へ出力する。

[0202] 以上説明したように、本発明の実施の形態3に係る生体分子検出装置3 0 0によれば、配向制御光3 2 6の振動方向の切り替えにより溶液中のフリー分子およびバインディング分子の配向方向を切り替えることが可能な構成とした。また、吸光度測定光3 1 2として、2つの直交する方向に振動する成分のみを有する光を用い、溶液を透過した吸光度測定光3 1 2を偏光ビームスプリッタで振動方向によって分離して直線偏光成分毎の吸光度を測定した。このようにして得られた直線偏光成分毎の吸光度を正規化して、正規化された吸光度を正規化することで、ナノロッド8の濃度ばらつきや、光学系の励起パワー変動などの影響を低減させることができる。正規化された吸光度から、実施の形態1と同様に溶液中のバインディング分子に付随したナノロッドによる吸光度への寄与分を算出することができ、簡便な構成で検出対象物質の濃度を正確に測定することができる。

[0203] なお、以上説明した本発明に係る各実施の形態は、本発明の一例を示すものであり、本発明の構成を限定するものではない。本発明に係る生体分子検出装置は、上記各実施の形態に限定されず、本発明の目的を逸脱しない範囲で種々変更して実施することが可能である。

[0204] 例えば、溶液中の分子の配向方向の切り替えは、光によるものに限られず、フリー分子の配向方向の切り替えおよびバインディング分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間に差が生じる程度の外力を加えるものであれば、磁気的な方法や電気的な方法としても良い。光による分子の配向制御を行うと、磁力等によって分子の配向を制御する場合に比べ複雑な機構が必要ないという利点がある。例えば、磁力を用いて分子の配向を制御するためには、それぞれの分子が磁性を持ったものであるか、磁性を持った分子を用意して配向を制御したい分子に結合させる必要があり、測定にあたっての準備が煩雑となる。

[0205] また、本発明に係る各実施の形態では、配向制御光の照射方向を2つの直交する方向の間で切り替えたが、必ずしもこの2つの直交する方向の間で切

り替える必要はない。フリー分子およびバインディング分子は、配向する方向が異なればそれぞれが有するナノロッドの吸光度が異なり、フリー分子の1分子あたりの吸光度またはバインディング分子の1分子あたりの吸光度も異なる。従って、配向制御光の照射方向を2つの直交する方向、すなわちフリー分子の配向方向およびバインディング分子の配向方向を2つの直交する方向としなくとも、フリー分子およびバインディング分子を分離して算出することができる。配向制御光の照射方向が直交していれば、フリー分子の配向およびバインディング分子の配向が完了するまでの時間差が最大となって最もS/Nが良くなる。一方で、例えば配向制御光の照射方向を、それぞれの照射方向の成す角度が60度とすれば、直交する2つの方向に配向制御光の照射方向を切り替える場合と比べ、フリー分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間およびバインディング分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間が短くなり、測定に要する時間も短くなる。このように配向制御光を照射する2つの方向の成す角度が90度より小さいほど、フリー分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間およびバインディング分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間が短くなり測定時間も短くなる。

[0206] また、溶液中に検出対象物質が存在するか否か、すなわちバインディング分子が存在するかないかのみを測定したい場合は、フリー分子とバインディング分子とに配向方向の切り替えに時間差が生じる程度だけ角度を変えた2つの方向で配向制御光の照射方向を切り替えれば良い。フリー分子とバインディング分子とに配向方向の切り替えに時間差が生じれば、その差は吸光度の変化として表れるため、バインディング分子の存在を確認できる。

[0207] また、分子の配向方向を切り替えるため、本発明に係る実施の形態1および2では、AODにより配向制御光の進行方向を切り替え、実施の形態3では直線偏光した配向制御光の振動方向を切り替えたが、分子の配向方向の切り替えには必ずしもこれらの方法を用いる必要はない。例えば、配向制御光の照射方向を変えた配向制御用光源部を複数設けて、使用する配向制御用光

源部を切り替えることにより配向制御光の照射方向を切り替えても良い。

[0208] また、配向制御用光源部は必ずしも1つの照射方向に1つのみを設ける必要はなく、複数の配向制御用光源部を設けて、同一方向に複数の配向制御光を照射しても良い。また、配向制御光は、進行方向に垂直な方向の断面形状がどのようなものであっても良い。例えば、図27Aに示すように、振動方向352の方向に振動する直線偏光した配向制御光350が照射される場合を考える。この場合、配向制御光は、進行方向に垂直な方向の断面形状が略長方形である。このとき、配向制御光350の中心に位置するナノロッド354と配向制御光350の周縁部に位置するナノロッド356の挙動を考える。

[0209] 図27Bに示すように、配向制御光350の偏光軸を回動させると、回動軸（偏光軸の回動中心）上に位置するナノロッド354は、偏光軸の回動に追従して回動する。一方、配向制御光350の周縁部に位置するナノロッド356は、偏光軸の回動に追従できず、偏光軸から離れることになる。その後しばらくすると、ナノロッド356も偏光軸に引き込まれて配向する。そして、図27Cのように、配向制御光350の偏光軸を、図27Aに対して90度回転させても、ナノロッド354は追従し、ナノロッド356は追従できず、しばらくして配向制御光350に引き込まれて配向する。つまり、偏光軸の中心に位置するナノロッド354は、配向制御光の振動方向に同期して回動するが、偏光軸の周縁部に位置するナノロッド356の動きは、偏光軸の中心に対して公転するような動きとなり、配向制御光の振動方向に同期しない。

[0210] このように、配向制御光の偏光軸の回動に追従できないナノロッドが存在すると測定に影響を与えることがある。その場合は、図28（試薬カップ108の上面図）に示すように、360a～360iの9点にそれぞれ対応した9本の配向制御光を入射させるような態様でも良い。このようにすると、配向制御光の偏光軸の中心に位置するナノロッドが増えるため、測定への影響を低減することができる。なお、ここでは9点に配向制御光を入射させる

例を示したが、配向制御光を入射させる点は9点に限られず、9点より多くても少なくても良い。配向制御光を絞るほど、多くの点に入射させることが望ましい。これにより、複数箇所配向に同期してナノロッドを回転させることができる。その結果、突発的な吸光度の変動を低下させることができ、相対的な散らばりを表す指標である変動係数 (Coefficient of Variation) を改善させることができる。

[0211] このように、配向制御光を多点に入射させるための配向制御用光源部402の構造について図29に示す。配向制御用光源部402は、 3×3 の2次元レーザーアレイである。配向制御用光源部402は、発光点404a~404iの9点が発光する。発光点の大きさは縦が $1 \mu\text{m}$ で横が $100 \mu\text{m}$ である。発光点の間の距離は約 $100 \mu\text{m}$ である。この配向制御用光源部402を用いた光学系の一例を図30に示す。なお図30では、配向制御光および吸光度測定光の光学系以外の構成要素は省略して描いてある。

[0212] 配向制御用光源部402から照射された直線偏光した配向制御光422は、コリメータレンズ406を通して焦点において平行光線となる。コリメータレンズ406を通った配向制御光422は、ビームエキスパンダ408およびビームエキスパンダ410を通して $\lambda/2$ 波長板412に入射する。ビームエキスパンダ408およびビームエキスパンダ410を通った配向制御光422は、特定の倍率の平行光束に広げられる。 $\lambda/2$ 波長板412は回転ステージ上にあり、回転可能となっている。これにより配向制御光422の偏光軸を回動することができる。 $\lambda/2$ 波長板412を透過した配向制御光422は、ダイクロイックミラー418で反射してレンズ420により集光されて試薬カップ108の底面から上面に向かって入射される。

[0213] 光源部414から照射された吸光度測定光424は、レンズ426を通過してダイクロイックミラー416により反射される。ダイクロイックミラー416により反射された吸光度測定光424は、ダイクロイックミラー418を透過してレンズ420により集光されて試薬カップ108の底面から上面に向かって入射する。

- [0214] 図30に示す光学系において、コリメータレンズ406の焦点距離を3.1 mm、レンズ420の焦点距離を4 mmとすると、倍率は1.29倍となる。そのため、試薬カップ108の底面において、配向制御光422の大きさは約 $1.3\ \mu\text{m} \times 130\ \mu\text{m}$ となり、ピッチは約 $129\ \mu\text{m}$ となる。
- [0215] 配向制御光を多点に入射させる別の光学系の例について図31に示す。なお図31においても、配向制御光および吸光度測定光の光学系以外は省略して描いてある。また、図30と同一の構成要素には同一の符号を付し、その説明を省略する。
- [0216] 図31に示す光学系において、配向制御用光源部116は実施の形態1と同様のものである。配向制御光432は、コリメータレンズ406、ビームエキスパンダ408およびビームエキスパンダ410を通り、マイクロレンズアレイ428へ入射する。マイクロレンズアレイ428は、図32に示すように、複数のマイクロレンズ430を格子状に並べたものである。マイクロレンズアレイ428を通った配向制御光432は、複数の光源から照射された光のように、異なる位置で焦点を結ぶ複数の光束となる。配向制御光432は、ピンホールアレイ430によって絞られ、ダイクロイックミラー418で反射してレンズ420を通して試薬カップ108の底面から上面に向かって入射する。このようにマイクロレンズアレイを用いても、配向制御光を多点に入射させることができる。
- [0217] また、実施の形態1のような配向制御光を照射する方向を変える光学系においては、配向光を多点に照射するために、光学系を複数段用意しても良い。例えば、同様の光学系を3段重ねれば、3つの配向制御用光源部から配向制御光が照射され、試薬カップ108へ3点から入射させることができる。このようにしても、配向制御光を多点から照射することができ、複数箇所でのナノロッドを回動させることができる。
- [0218] なお、ここでは直線偏光した配向制御光を複数の位置から照射して多点に入射させるための光学系について示したが、直線偏光していない配向制御光を多点に入射させ、照射方向を切り替えることでナノロッドの配向方向を切

り替えても良い。その場合も、2次元レーザーアレイやマイクロレンズアレイ等を用いて配向制御光を複数の位置から照射する。配向制御光の照射方向の切り替えは、AOD等を用いて切り替えても良いし、配向制御光の照射方向が異なる複数の光源を設けて使用する光源を切り替えても良い。

[0219] また、本発明に係る各実施の形態では、生体分子検出装置内に試薬カップを1つ設ける場合を説明したが、必ずしも試薬カップは1つである必要はなく、装置内に複数の試薬カップを設けて複数の検体をセットできる構成としても良い。その場合は、装置が試薬カップを順に測定位置に移動させて測定を行う構成とすれば、自動で複数の検体を測定することができる。

[0220] また、上記各実施の形態では試薬カップを円柱状の形状としたが、試薬カップは必ずしも円柱状の形状とする必要は無い。例えば、図33に示すように、四角柱状の形状を有し、内部に四角柱状の容器保持部を有する試薬カップ432を用いても良い。このような四角柱状の容器保持部を有する試薬カップ432は、特にフリー分子およびバインディング分子が、配向制御光によって、配向制御光の進行方向へ圧力を受けて容器壁面に押しつけられる場合に適している。これは、フリー分子およびバインディング分子の質量が軽い場合などに起こり、配向制御光からの力を受けてフリー分子およびバインディング分子が溶液中を移動してしまうことが原因である。この場合、容器保持部が四角柱であると、フリー分子およびバインディング分子は溶液と試薬カップ432との界面である平面に押しつけられ配向される。界面が平面であるため、フリー分子およびバインディング分子は横に移動して配向制御光の外に出ることがない。また、フリー分子およびバインディング分子が壁面に押しつけられる場合には、配向制御光の焦点の位置を工夫するとより配向させやすい。

[0221] 図34は、直線偏光した配向制御光の焦点の位置の一例を示す図である。配向制御光434は、レンズ436に入射し、血漿16と試薬カップの壁面432bとの界面において焦点434aを結ぶ。配向制御光の焦点の位置は、配向制御光が最も強い力でフリー分子およびバインディング分子を配向さ

せる。従って、図34のように配向制御光を入射させると、配向制御光は、焦点434cの位置においてフリー分子およびバインディング分子を壁面432bに押しつけつつ、より効率的にフリー分子およびバインディング分子を配向させることができる。この場合においても、直線偏光した配向制御光の偏光軸を回動させることで、フリー分子およびバインディング分子の配向方向を焦点434cの位置において変化させることができる。

なお、容器保持部は必ずしも四角柱状の形状を有している必要はなく、少なくとも一面に平面を有していれば良い。その平面において焦点を結ぶように配向制御光を照射すればフリー分子およびバインディング分子は横に移動して配向制御光の外に出ることがなく、平面に押しつけられて配向される。

[0222] なお、本発明に係る各実施の形態では、ナノロッドと結合した抗体を用いた例を説明したが、抗体は、必ずしもナノロッドと結合させておく必要はない。例えば、抗体および抗原の結合と、抗体およびナノロッドの結合とを同時に試薬カップ内で行っても良い。この場合、ユーザーは、抗体およびナノロッドをそれぞれ別の試薬タンクに用意しておく。測定時には、生体分子検出装置が、抗体、ナノロッドおよび検体をそれぞれ試薬カップへ分注して反応させる。

[0223] また、配向制御用光源部116や光源部118は、生体分子検出装置から着脱可能な構成として、検出対象物質およびナノロッドの種類に応じて、適切なものに交換できるようにしても良い。

[0224] また、配向制御の方向を所定の時間間隔で切り替え、得られた複数の吸光度の加算平均を行って、上記検出対象物質の検出または定量を行うと、ノイズによる測定精度への影響を減少させることができ、より高精度な測定が可能となる。

[0225] 配向制御の方向を切り替える所定の時間間隔は、溶液中に存在する全てのフリー分子および溶液中に存在する全てのバインディング分子の配向方向の切り替えが完了するまでに要する時間間隔とすることが望ましい。溶液中に存在する全てのフリー分子およびバインディング分子の配向方向の切り替え

が完了するまでに要する時間は、例えば、吸光度が変化する時間に基づいて求めることができる。生体分子検出装置による測定を何周期か繰り返せば、吸光度が飽和するまでに要する時間がおおよそ分かる。吸光度が飽和するまでに要する時間は、溶液中に存在する全てのフリー分子およびバインディング分子が配向方向の切り替えを完了するまでに要する時間である。そのため、吸光度が飽和するまでに要する時間を上記所定の時間間隔とすることが望ましい。また、吸光度が飽和するまでに要する時間を加算平均して、算出した時間を所定の時間間隔として決めれば、ノイズ等による測定毎のばらつきの影響を減少させることができる。このように所定の時間間隔を設定すると、溶液中の全てのフリー分子および溶液中の全てのバインディング分子が配向を完了した後も同一方向に配向制御光を照射することがなくなり、消費電力を削減することができる。さらに、測定時間も短くすることができる。

[0226] また、溶液中に存在する全てのフリー分子および溶液中に存在する全てのバインディング分子が配向方向の切り替えを完了するまでに要する時間は、フリー分子およびバインディング分子のそれぞれの質量または体積、配向制御手段により配向を制御する外力の強度、溶媒の粘度等から求めることもできる。

[0227] なお、本発明に係る各実施の形態では、説明を容易にするためナノロッドに1つの抗体が結合している場合を例にとって説明したが、ナノロッドに結合させる抗体は必ずしも1つである必要はない。

[0228] なお、本発明に係る各実施の形態では、検体として全血から分離した血漿を用いる場合を例にとって説明したが、検体は全血から分離した血漿に限られず、尿や髄液等、検出対象物質が溶液中に分散していれば検体とすることができる。

[0229] また、本発明に係る各実施の形態では、ナノロッドおよび抗体が固定された基板を用いず、抗原、抗体およびナノロッドが液体中に分散している系で測定ができるため、抗原等を基板に固定して測定を行う測定に比べ、前処理が簡単であるという利点がある。また、抗原、フリー分子共に溶液中を自由

に動き回れるため、基板を用いる系に比べて反応が早いという利点がある。

[0230] また、本発明に係る各実施の形態では、ナノロッドとして金ナノロッドを例にとって説明したが、ナノロッドを構成する材料は金に限られず、プラズモン共鳴が生じ得る金属が含まれていれば良い。例えば、銀や銅などを使用することができる。

[0231] また、本発明に使用することができるナノロッドのサイズは、本発明に係る各実施の形態で使用したものに限られず、配向方向の変化により光の吸光度が変化するサイズであれば何でも良い。

[0232] また、本発明に係る各実施の形態では、ナノロッドの中央付近に抗体が結合されている場合を例にとって説明したが、抗体は必ずしもナノロッドの中央付近に結合される必要はない。抗体がナノロッドのいずれの場所に結合されていても、抗体に抗原が結合すれば、溶液中におけるフリー分子の回転し易さとバインディング分子の回転し易さに差が生じる。フリー分子とバインディング分子の回転し易さに差が生じれば、本発明に係る生体分子検出装置によりフリー分子の寄与分とバインディング分子の寄与分を分離することができ、検出対象物質を検出することができる。

[0233] また、本発明に係る各実施の形態では、1つのナノロッドに1つの抗体が固定されている場合を例にとって説明したが、ナノロッドに固定される抗体は必ずしも1つである必要はない。1つのナノロッドに複数の抗体が固定されていても良い。

[0234] また、本発明に係る各実施の形態では、飽和した吸光度の値を基にバインディング分子の濃度を求めたが、必ずしもそのような方法で求める必要はない。例えば、図35AおよびBに示すように、配向制御信号の周波数を変え、ロックインアンプを用いて配向制御信号の周波数に同期した成分を抽出する。図35Aにおいては、配向制御信号の周期 t_1 が十分長く、配向制御信号を5Vにしている期間が長いため、全てのフリー分子およびバインディング分子が配向して、吸光度は最大値となり、ロックインアンプの出力は最大値 I_1 となる。一方、図35Bは配向制御信号の周期 t_2 が短く、全てのフ

リー分子およびバインディング分子が配向する前に配向制御信号が0 Vになるため、吸光度は最大値とならず、ロックインアンプ出力はI₂となる。I₂はI₁より小さい。同様にして3種のバインディング分子の濃度に対して、配向制御信号の値を切り替える周波数に対するロックインアンプ出力について予め検量線データを取得したグラフの例を図36に示す。

[0235] 抗原の濃度が大きいほどバインディング分子の濃度が増え、バインディング分子の方がフリー分子より質量および体積が大きいため、配向制御信号の切り替えに追従しにくい。すなわち、抗原の濃度が大きいほどロックインアンプの出力を最大値I₁にするために配向制御信号を長時間5 Vにする必要があり、配向制御信号の周期が長い必要がある。周波数は周期の逆数であるため、溶液中の抗原の濃度が大きいほど、ロックインアンプの出力がI₁となる周波数の最大値は小さくなる。逆に、溶液中の抗原の濃度が小さいほどロックインアンプの出力がI₁となる周波数の最大値は大きくなる。例えば、図36に示す3種の検量線において、検量線502は最も抗原濃度が大きく、次いで検量線504の抗原濃度が大きく、検量線506は最も抗原濃度が小さい。例えば、溶液を測定することによって得られたロックインアンプ出力の最大値に対して半値となる周波数がf₁であった場合、検量線502と一致することが分かり、検量線502を取得した際の抗原の濃度が溶液中の抗原の濃度として出力される。

[0236] また、本発明に係る各実施の形態においては、吸光度の測定に基づいて検出対象物質の定量を行ったが、必ずしも吸光度のみの測定を行う必要はない。例えば、吸光度に加え、フリー分子およびバインディング分子による散乱光を測定して、光の減光量を測定しても良い。減光量とは、吸収される光の量と散乱される光の量との双方の寄与からなる。従って、溶液を透過する前後の配向制御光の光量を調べてフリー分子およびバインディング分子による配向制御光の吸光度を測定し、フリー分子およびバインディング分子による配向制御光の散乱光を測定することにより、配向制御光の減光量を求めることができる。また、フリー分子およびバインディング分子による配向制御光

の散乱光のみを測定しても良い。フリー分子およびバインディング分子による配向制御光の散乱光の強度は、配向制御光の吸収量と同様にフリー分子およびバインディング分子の配向方向によって変化する。従って、散乱光のみを測定しても、吸光度を求めた場合と同様に測定を行うことができる。散乱光を測定する場合は、一般的に暗視野顕微鏡で用いられる方法で測定を行う。すなわち、開口数（NA）の大きな輪帯光で照明し、受光側でその輪帯光をカットし散乱光のみ受光する。輪帯光とは、断面がリング状の光のことである。

[0237] なお、フリー分子およびバインディング分子による配向制御光の散乱光のスペクトルは既知のため、フリー分子およびバインディング分子による配向制御光の散乱光を測定するためには、受光部に散乱光の波長の光のみを通すバンドパスフィルタを設ければ良い。また、吸光度と散乱光との双方を測定する場合、すなわち、透過光と散乱光を受光する場合は、フリー分子およびバインディング分子を含む溶液から出射する光をダイクロイックミラー等を用いて分光し、バンドパスフィルタを通して透過光と散乱光をそれぞれ受光すれば良い。

産業上の利用可能性

[0238] 本発明に係る生体分子検出装置および生体分子検出方法は、例えば、検出対象物質と、その検出対象物質に特異的に結合する物質との相互作用を利用して、検出対象物質の検出又は定量を行う装置に利用することができる。

符号の説明

[0239] 8 ナノロッド
 1 2 抗体
 1 6 血漿
 1 8 抗原
 1 0 0、2 0 0、3 0 0 生体分子検出装置
 1 1 6、3 2 2、4 0 2 配向制御用光源部
 1 1 8、2 0 1、3 0 4、4 1 4 光源部

1 2 0 A O D

1 2 4、2 0 2、3 0 6、3 0 8 受光部

1 4 4、2 1 2、2 1 4 フィルタ

1 4 6 偏光子

1 5 0、3 4 0、3 4 2 フォトダイオード

2 1 0 フィルタ切替部

請求の範囲

- [請求項1] 特定の生体分子に特異的に結合し得る物質と光吸収特性に異方性を示す検出用標識とを有する第1の複合体、および前記生体分子が前記物質を介して前記第1の複合体に特異的に結合した第2の複合体、が含まれる溶液中において、前記第1の複合体および前記第2の複合体を少なくとも2つの方向へ配向させる配向制御手段と、
- 特定方向の直線偏光成分を有する第1の光を前記溶液に照射する第1の光源と、
- 前記溶液による前記第1の光の減光量を測定する検出手段と、
- 前記検出手段により測定した光の減光量に基づいて前記生体分子を検出または定量する演算手段と、
- を具備し、
- 前記第1の光は、前記第1の複合体および前記第2の複合体の配向方向の変化により、前記検出用標識による減光量に変化が生じる波長の光である生体分子検出装置。
- [請求項2] 前記第1の光は、
- 前記配向制御手段による前記第1の複合体および前記第2の複合体の配向方向の変化により、前記検出用標識と前記特定方向の直線偏光成分との向きの関係が変化して前記検出用標識による減光量に変化が生じる光である請求項1の生体分子検出装置。
- [請求項3] 前記配向制御手段は、
- 第2の光を前記溶液に照射する第2の光源と、
- 前記第2の光の照射方向を切り替えることにより、前記第1の複合体および前記第2の複合体を前記溶液中で少なくとも2つの方向へ配向させる切替手段と、
- を具備する請求項2の生体分子検出装置。
- [請求項4] 前記配向制御手段は、
- 直線偏光した第3の光を前記溶液に照射する第3の光源と、

前記第3の光の偏光軸を回動させることにより、前記第1の複合体および前記第2の複合体を前記溶液中で少なくとも2つの方向へ配向させる偏光軸回動手段と、

を具備する

請求項2の生体分子検出装置。

[請求項5]

前記演算手段は、

前記配向制御手段によって配向される前記第1の複合体および前記第2の複合体による減光量の時間変化に差があることを利用して前記第1の複合体による減光量成分と前記第2の複合体による減光量成分とを分離し、前記生体分子を検出または定量する

請求項1乃至4のいずれか1項の生体分子検出装置。

[請求項6]

前記検出用標識は金属ナノロッドである請求項1乃至5のいずれか1項の生体分子検出装置。

[請求項7]

前記配向制御手段は、

前記金属ナノロッドの長軸方向と前記第1の光源から照射される光の振動方向とが平行となる第1の方向、および、

前記金属ナノロッドの長軸方向と前記第1の光源から照射される光の振動方向とが垂直となる第2の方向、

へ前記第1の複合体および前記第2の複合体を配向させる、

請求項6項の生体分子検出装置。

[請求項8]

前記配向制御手段は、前記第1の複合体および前記第2の複合体の配向方向を所定の時間間隔で変化させ、

前記検出手段は、減光量を複数回測定し、

前記演算手段は、複数回測定した減光量の加算平均に基づいて前記生体分子を検出または定量する請求項1乃至7のいずれか1項の生体分子検出装置。

[請求項9]

前記所定の時間間隔は、前記溶液中に存在する全ての前記第1の複合体および前記溶液中に存在する全ての前記第2の複合体の配向が完

了する時間間隔である請求項 8 の生体分子検出装置。

[請求項10] 前記第 1 の光源から照射される光の波長は、前記金属ナノロッドの長軸方向由来の減光量の最大値が現れる波長である請求項 6 または 7 の生体分子検出装置。

[請求項11] 前記溶液は、四角柱状の形状を有する容器保持部に保持される請求項 3 の生体分子検出装置。

[請求項12] 前記第 2 の光源は、前記第 2 の光が前記容器保持部から出射する位置において焦点を結ぶように前記第 2 の光を照射する請求項 11 の生体分子検出装置。

[請求項13] 前記第 2 の光源は、前記溶液に対して前記第 2 の光を複数の位置から照射する請求項 11 または 12 の生体分子検出装置。

[請求項14] 前記溶液は、四角柱状の形状を有する容器保持部に保持される請求項 4 の生体分子検出装置。

[請求項15] 前記第 3 の光源は、前記第 3 の光が前記容器保持部から出射する位置において焦点を結ぶように前記第 3 の光を照射する請求項 11 の生体分子検出装置。

[請求項16] 前記第 3 の光源は、前記溶液に対して前記第 3 の光を複数の位置から照射する請求項 14 または 15 の生体分子検出装置。

[請求項17] 前記検出手段は、減光量として前記溶液による前記第 1 の光の吸光度を測定する請求項 1 乃至 16 の生体分子検出装置。

[請求項18] 前記検出手段は、減光量として前記溶液による前記第 1 の光の散乱光を測定する請求項 1 乃至 16 の生体分子検出装置。

[請求項19] 特定の生体分子に特異的に結合し得る物質と光吸収特性に異方性を示す検出用標識とを有する第 1 の複合体、および前記生体分子が前記物質を介して前記第 1 の複合体に特異的に結合した第 2 の複合体、が含まれる溶液中において、前記第 1 の複合体および前記第 2 の複合体を少なくとも 2 つの方向へ配向させるステップと、

特定方向の直線偏光成分を有する第 1 の光を前記溶液に照射するス

テップと、

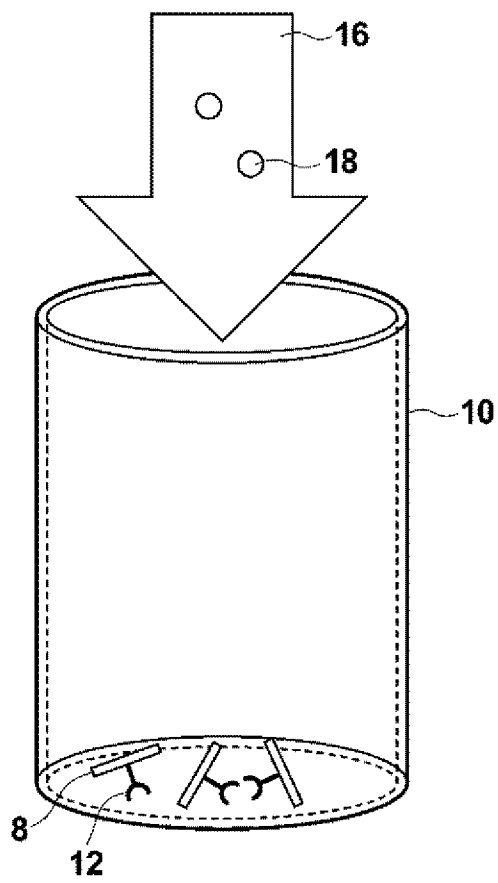
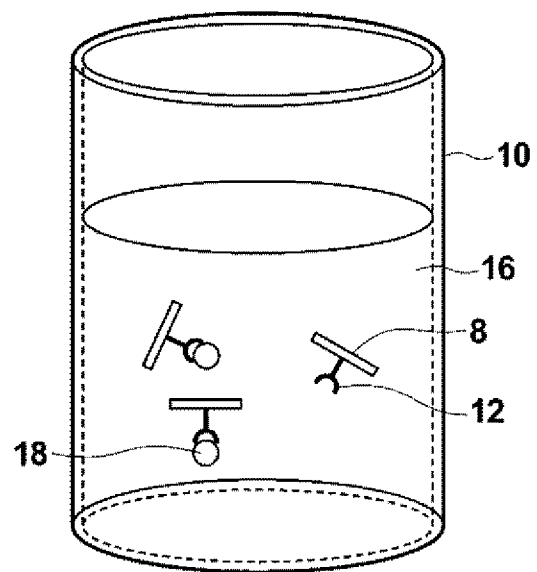
前記溶液による前記第 1 の光の減光量を測定するステップと、

前記検出手段により測定した光の減光量に基づいて前記生体分子を検出または定量するステップと、

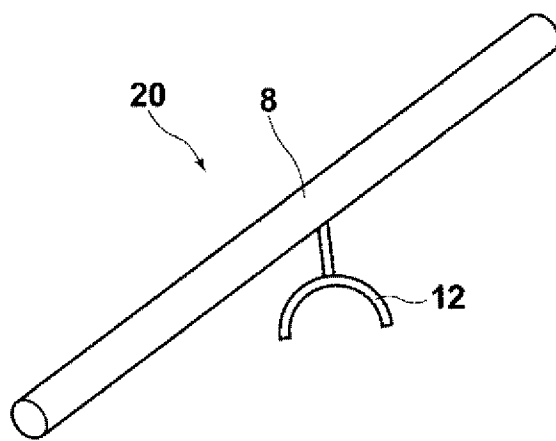
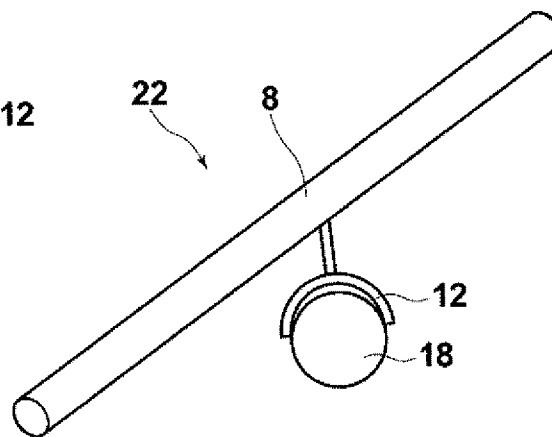
を具備し、

前記第 1 の光は、前記第 1 の複合体および前記第 2 の複合体の配向方向の変化により、前記検出用標識による減光量に変化が生じる波長の光である生体分子検出方法。

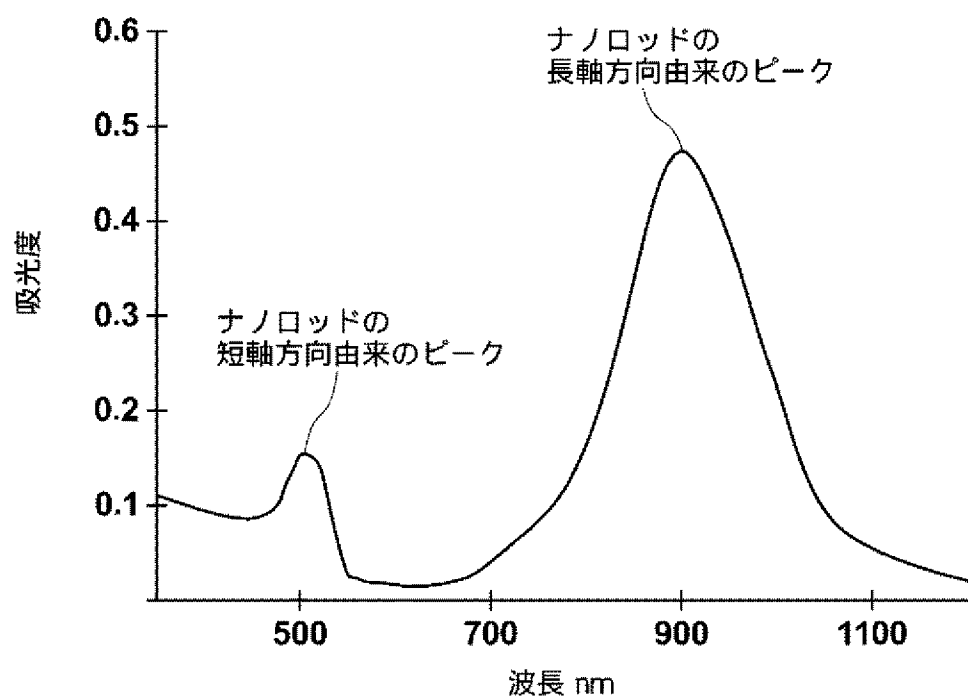
[図1]

FIG. 1A*FIG. 1B*

[図2]

FIG.2A*FIG.2B*

[図3]

FIG.3

[図4]

FIG. 4A

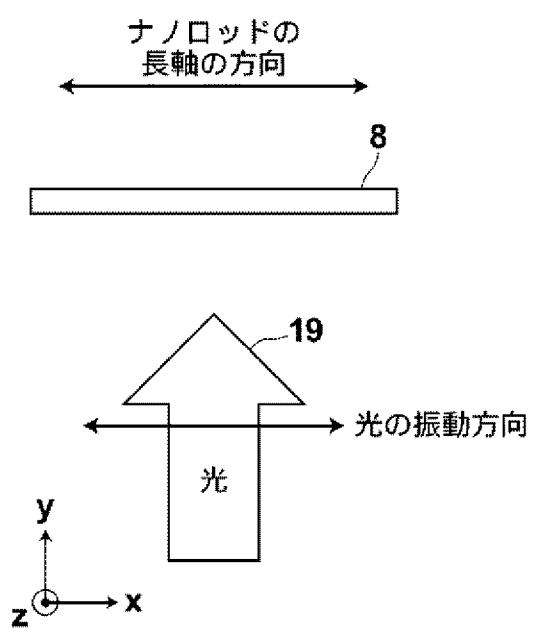
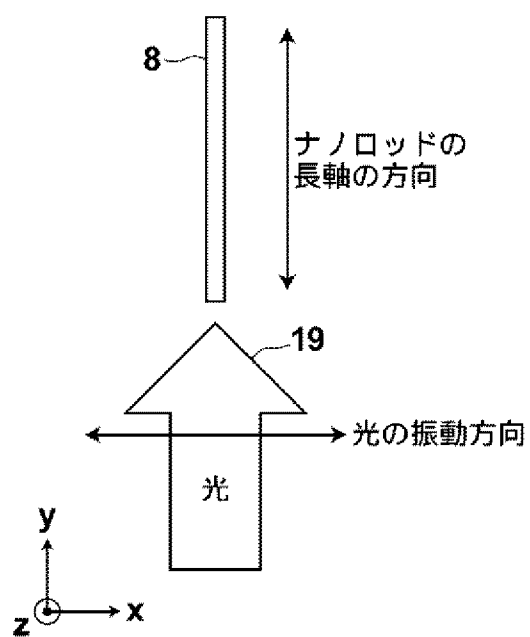
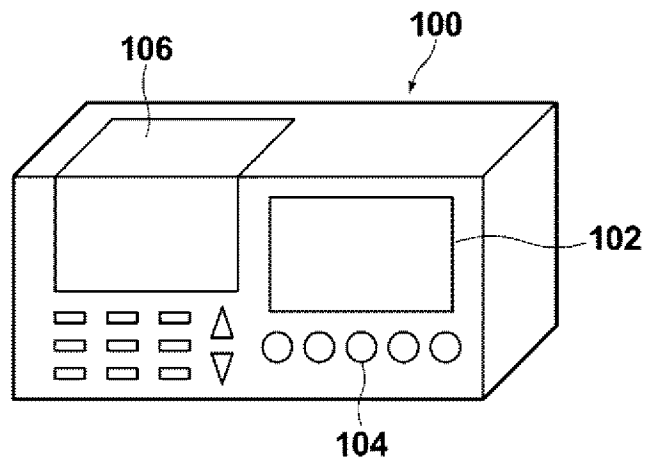
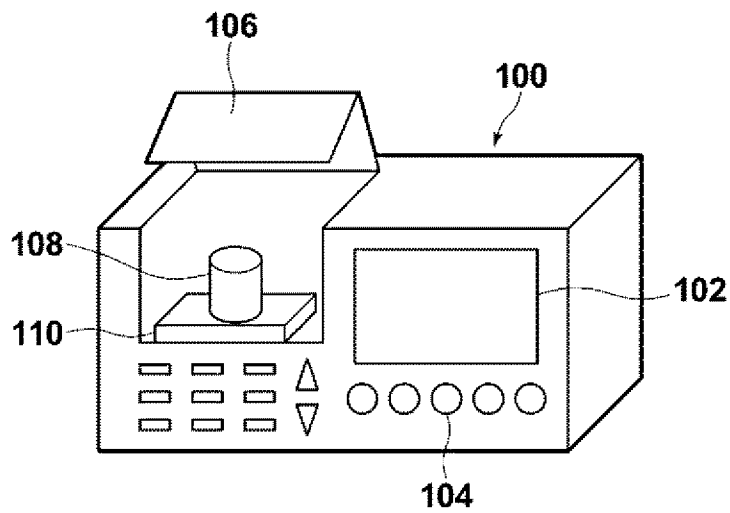


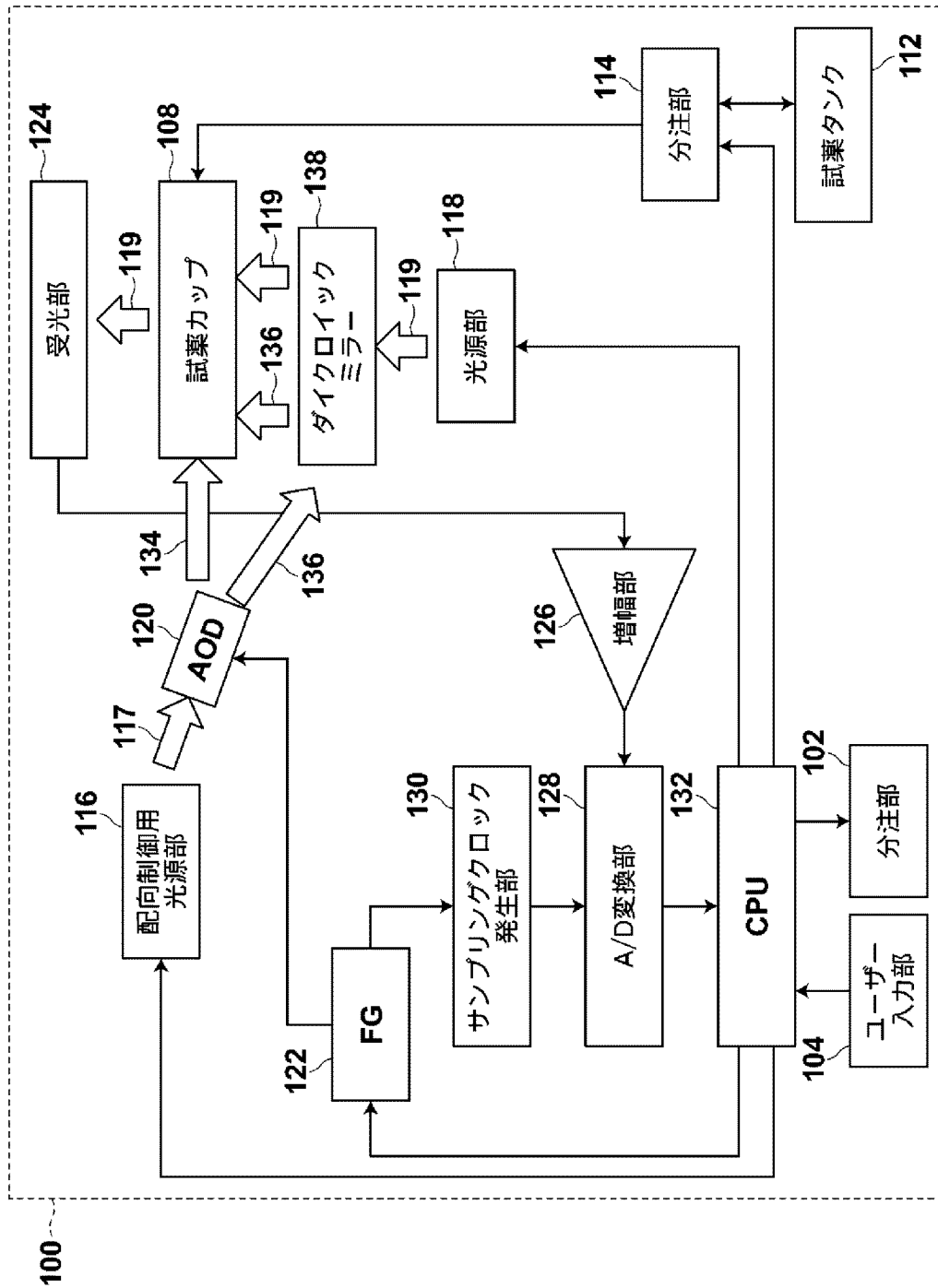
FIG. 4B



[図5]

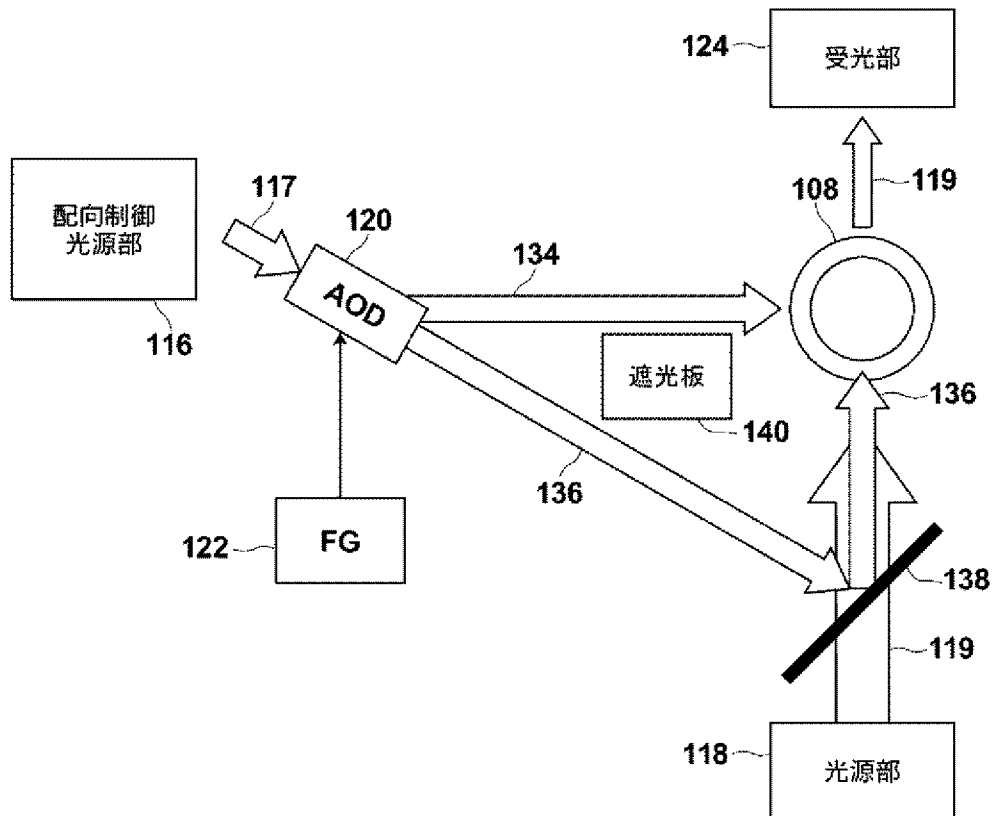
FIG. 5A*FIG. 5B*

[図6]

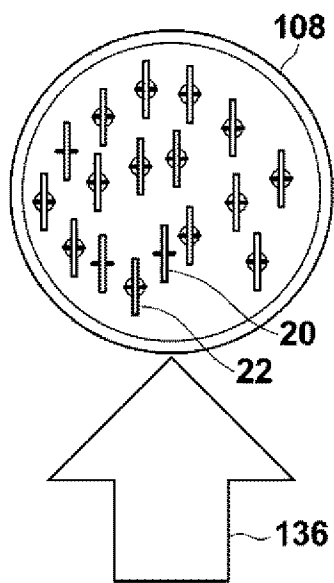
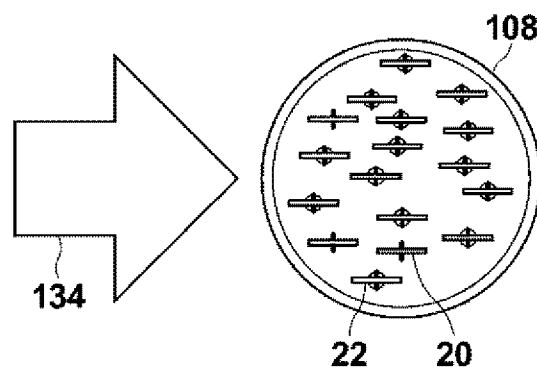


[図7]

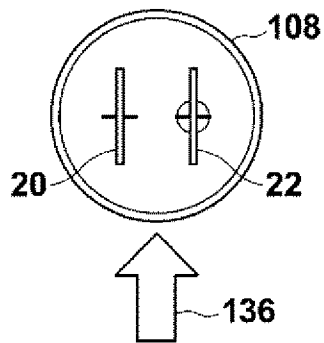
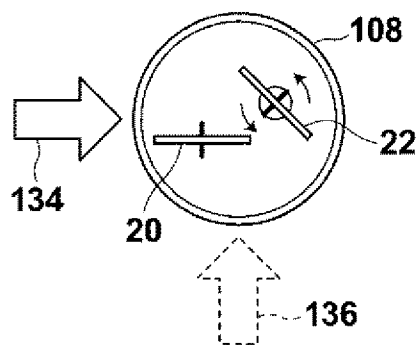
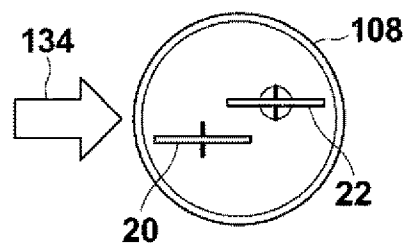
FIG. 7



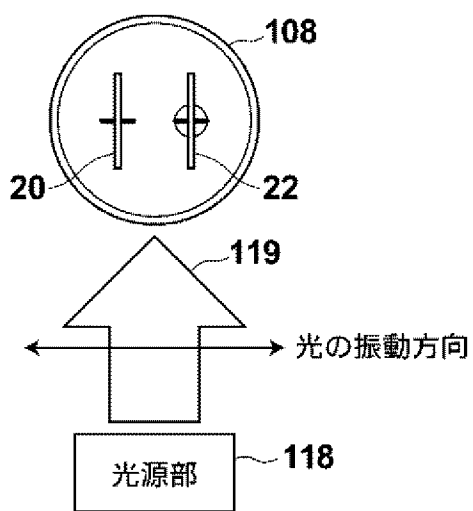
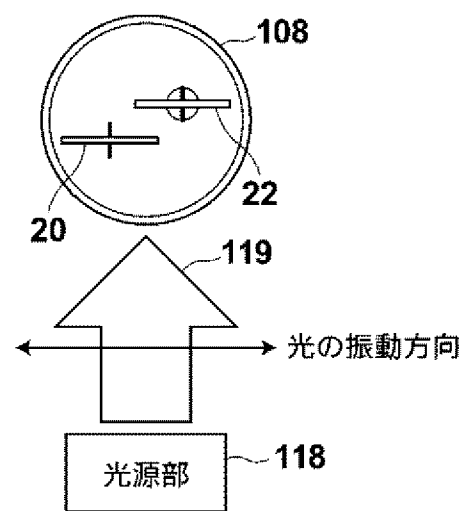
[図8]

FIG. 8A*FIG. 8B*

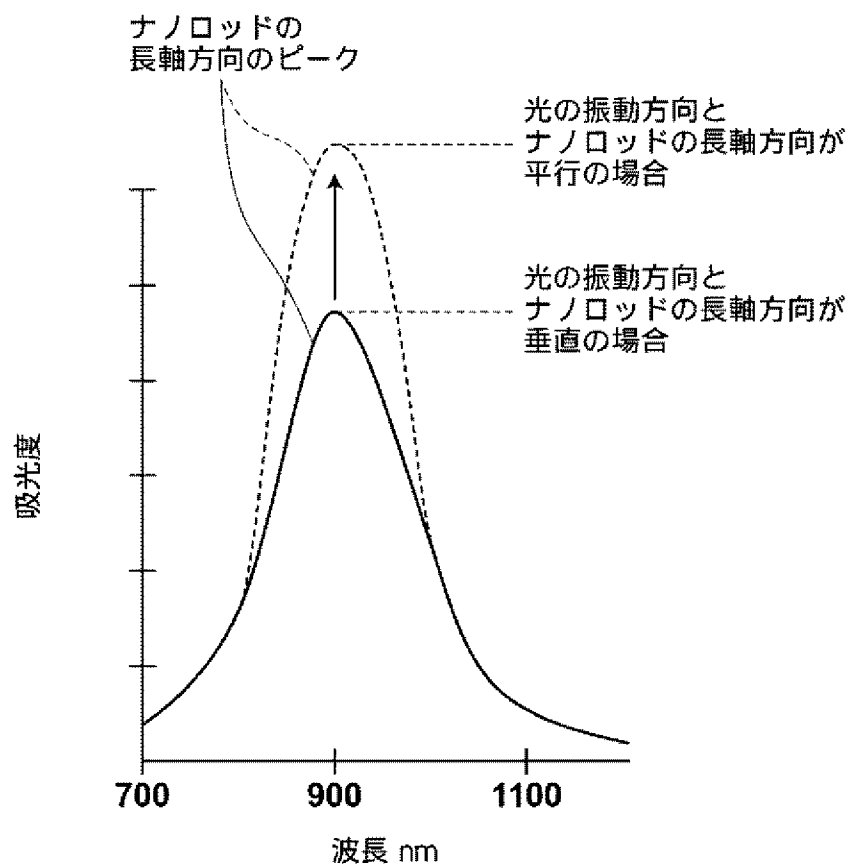
[図9]

FIG. 9A**FIG. 9B****FIG. 9C**

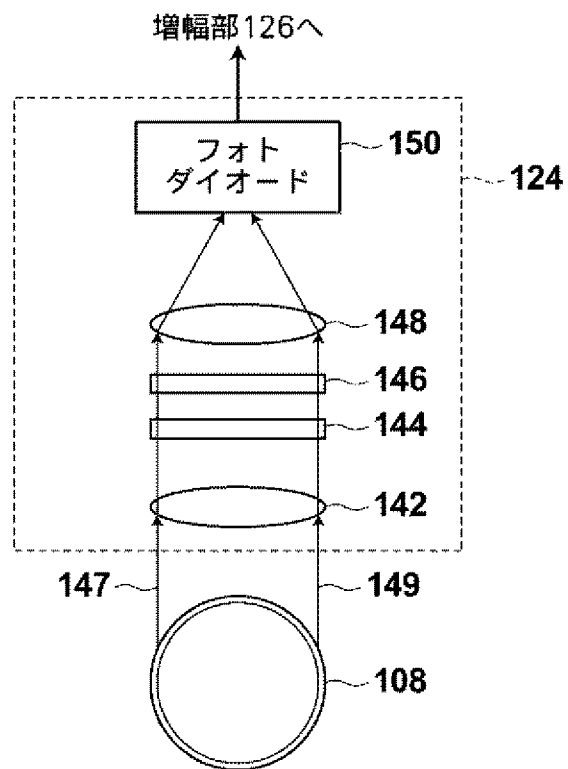
[図10]

FIG. 10A*FIG. 10B*

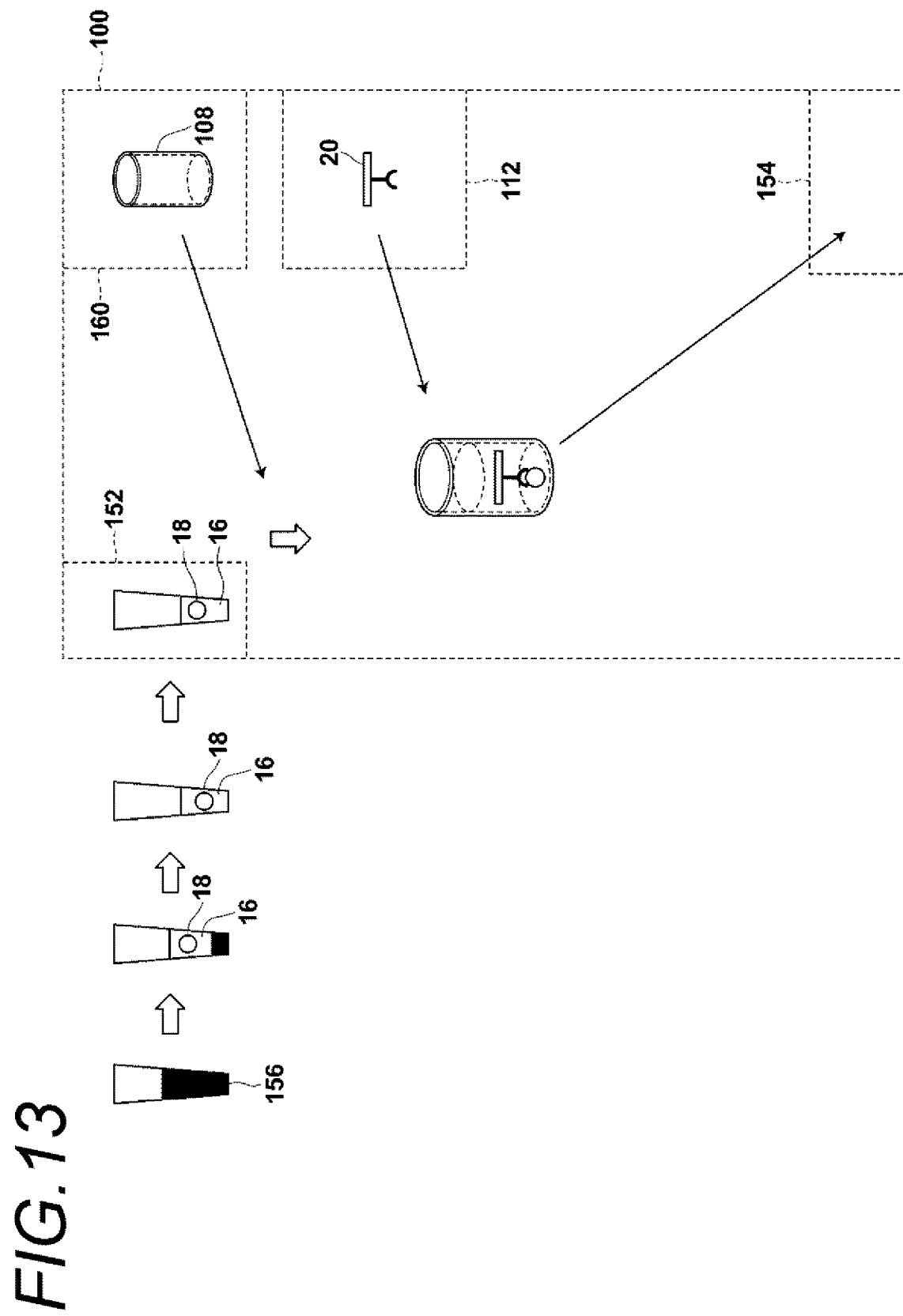
[図11]

FIG.11

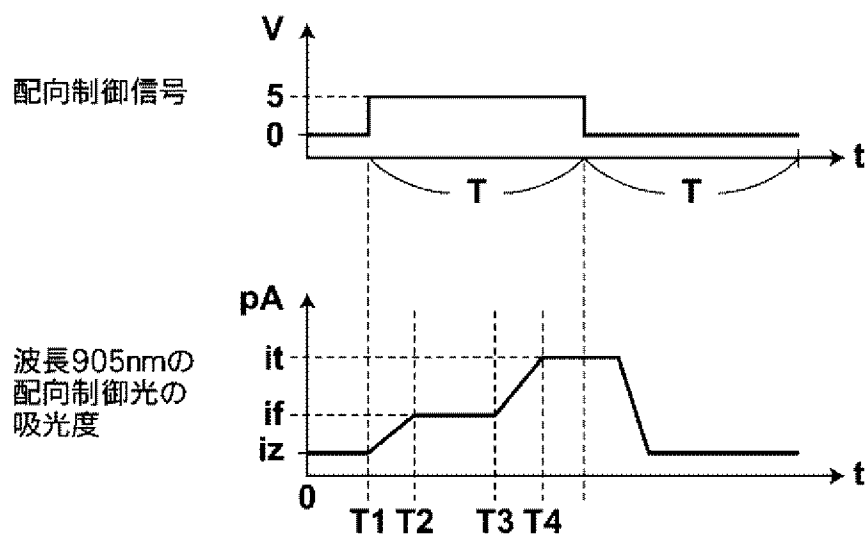
[図12]

FIG. 12

[図13]

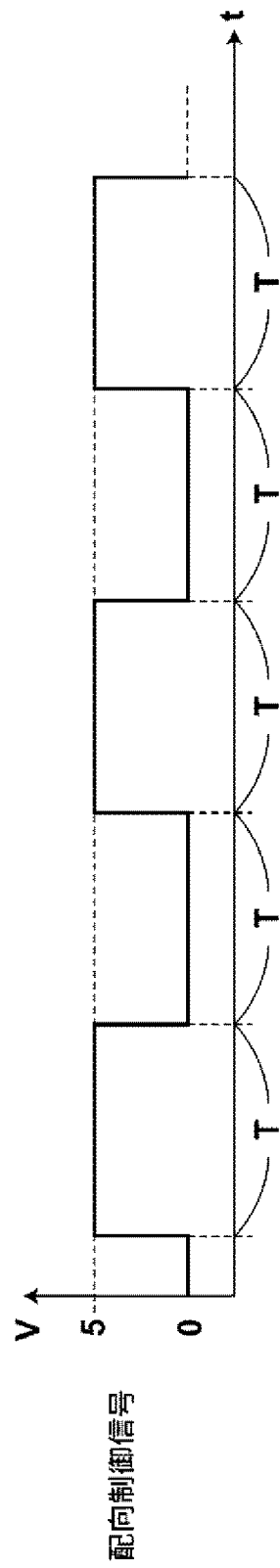


[図14]

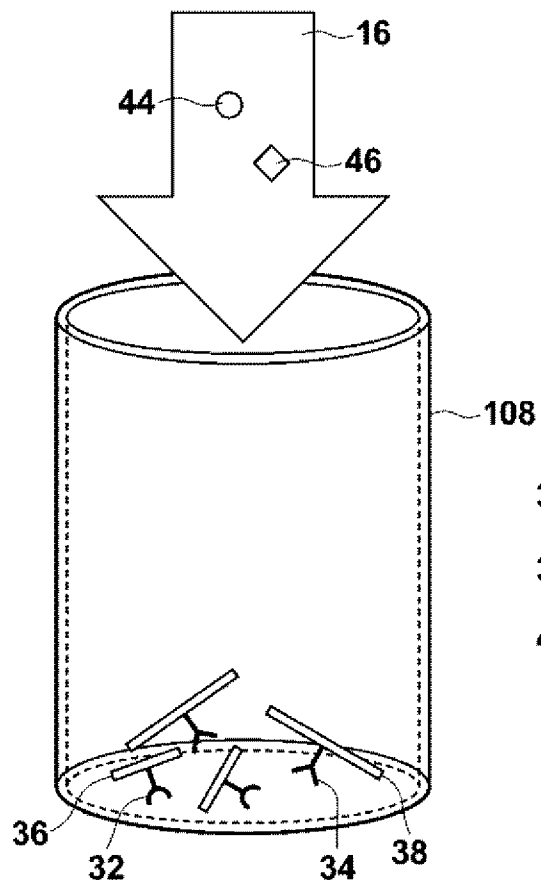
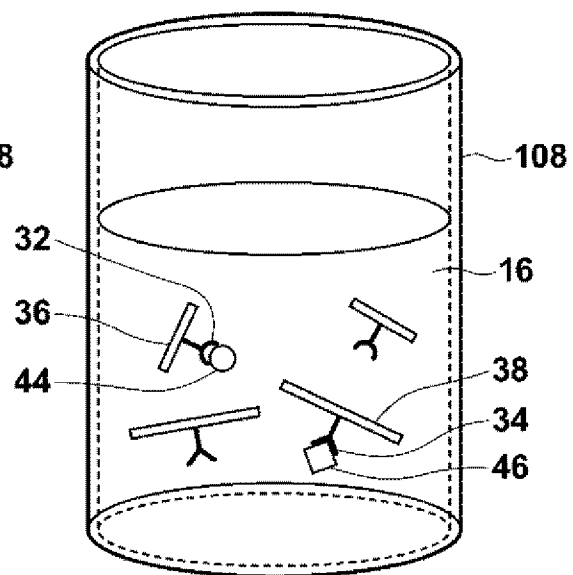
FIG.14

[図15]

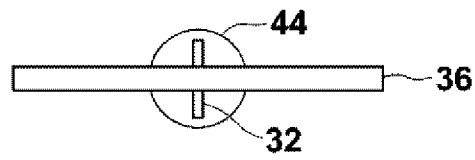
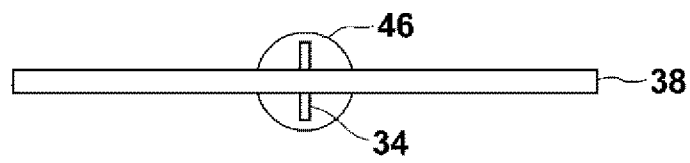
FIG. 15



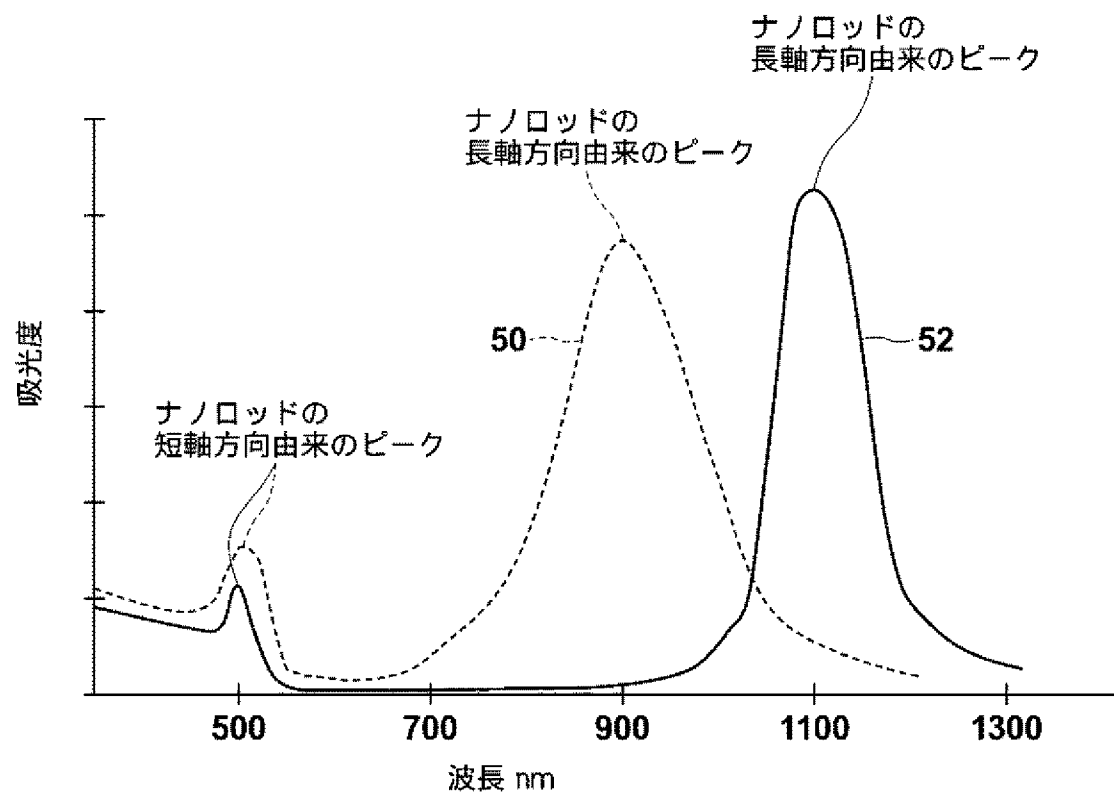
[図16]

FIG. 16A*FIG. 16B*

[図17]

FIG.17A*FIG.17B*

[図18]

FIG.18

[図19]

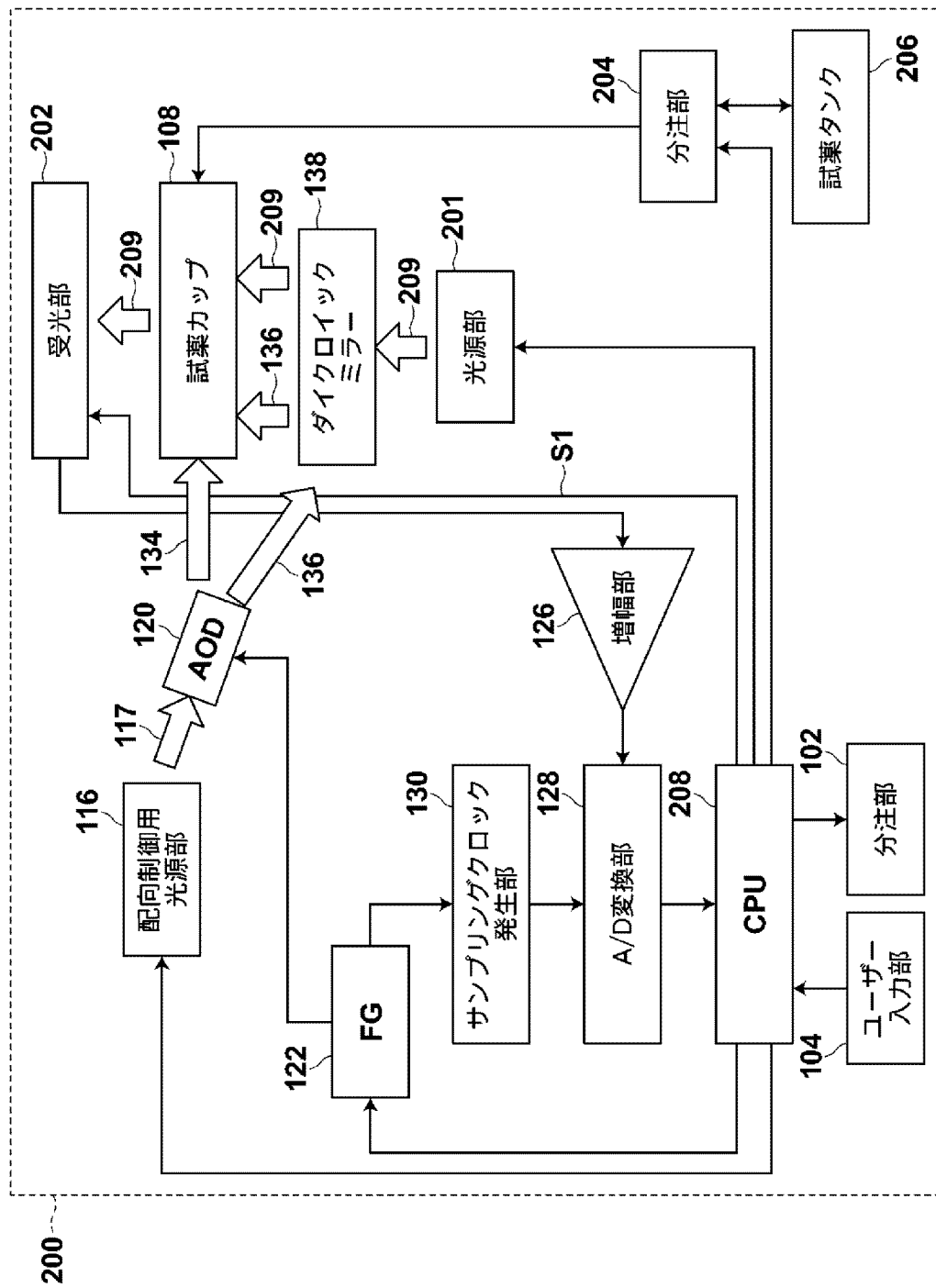
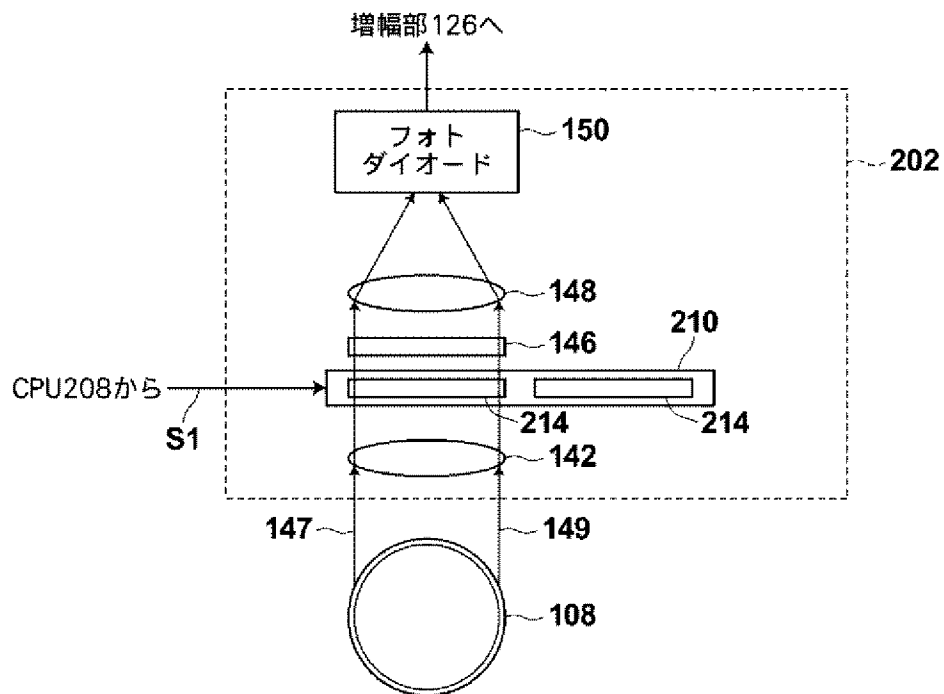


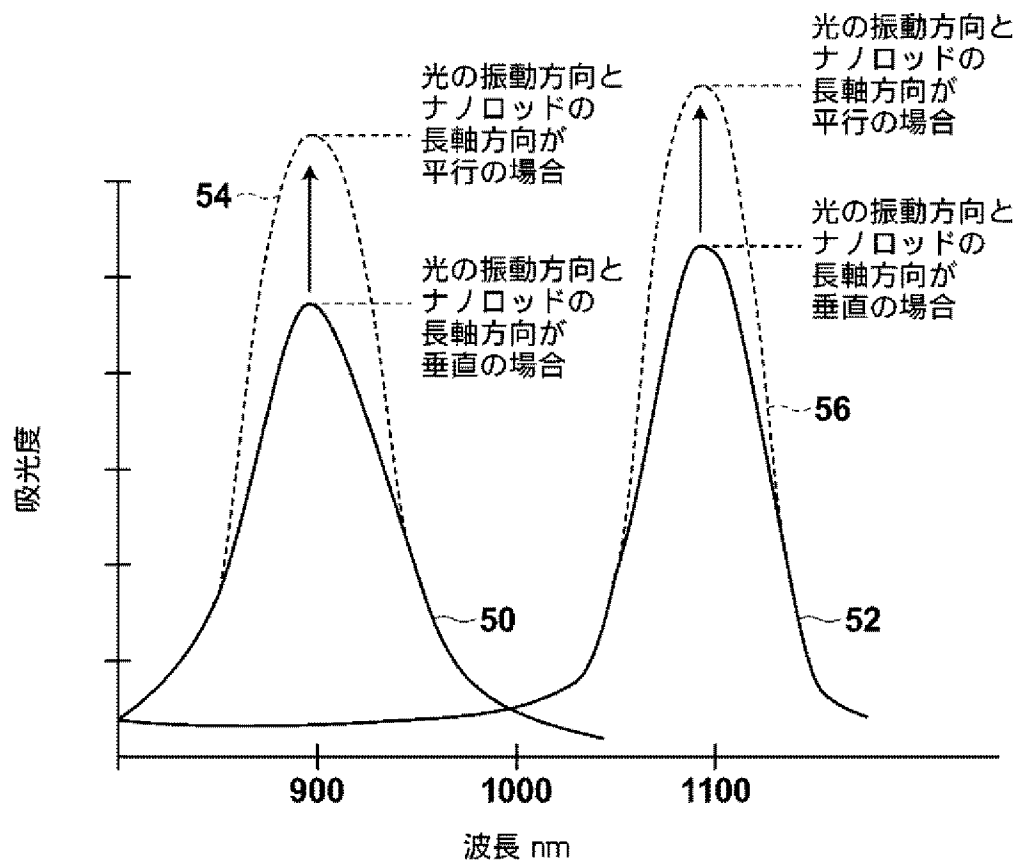
FIG. 19

[図20]

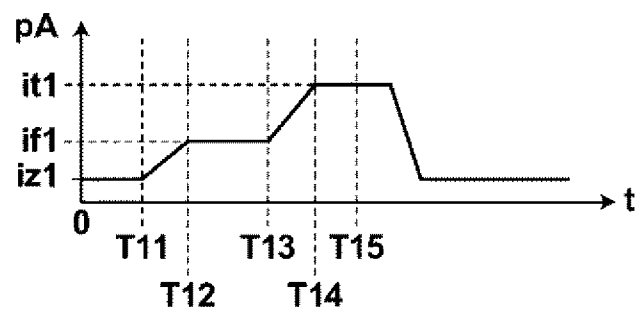
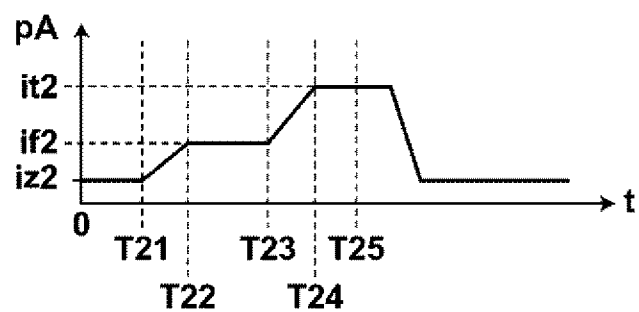
FIG. 20



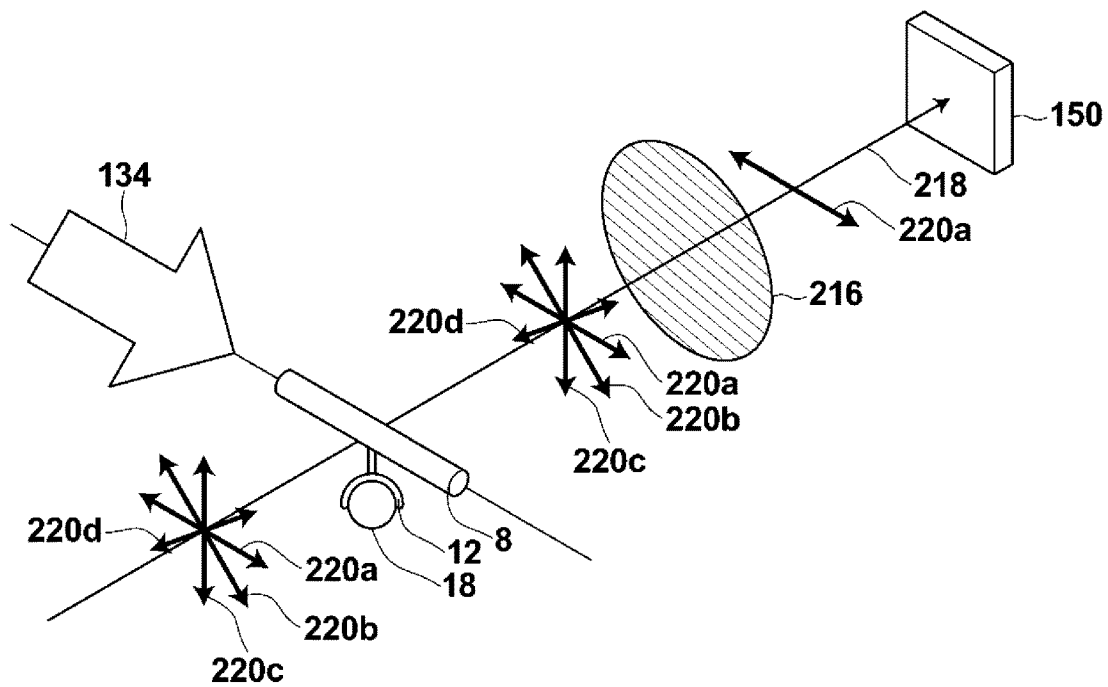
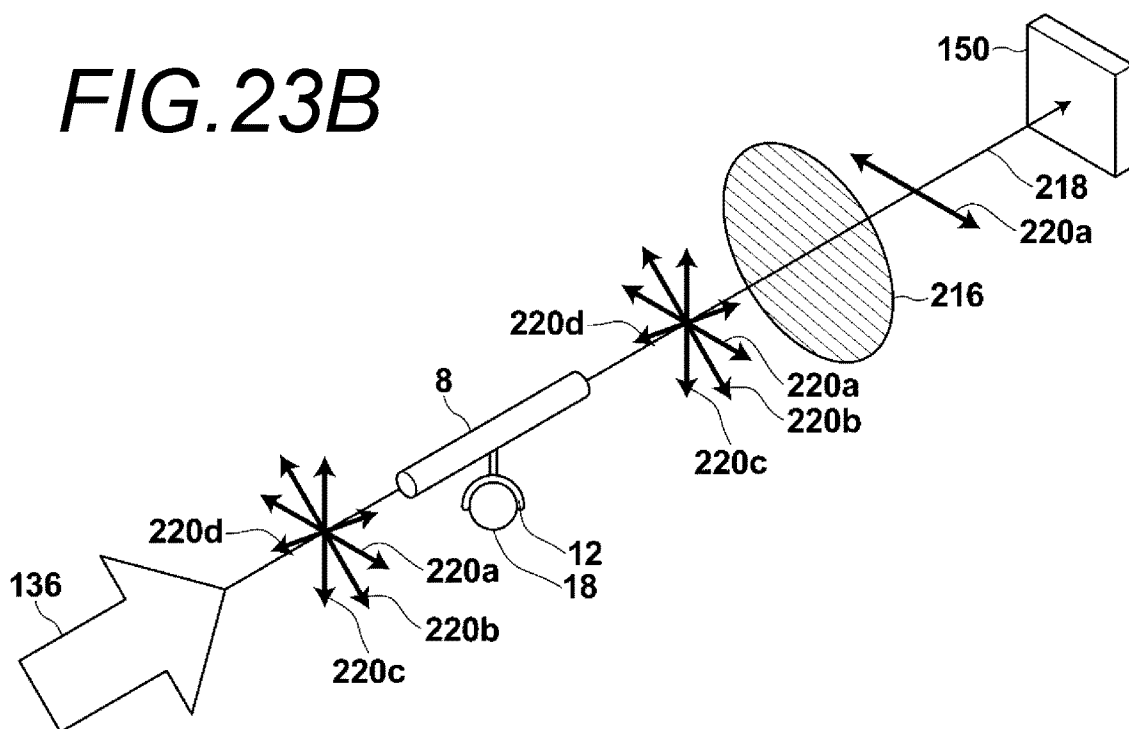
[図21]

FIG.21

[図22]

FIG.22A波長905nmの
配向制御光の
吸光度**FIG.22B**波長1100nmの
配向制御光の
吸光度

[図23]

FIG.23A**FIG.23B**

[図24]

FIG.24A

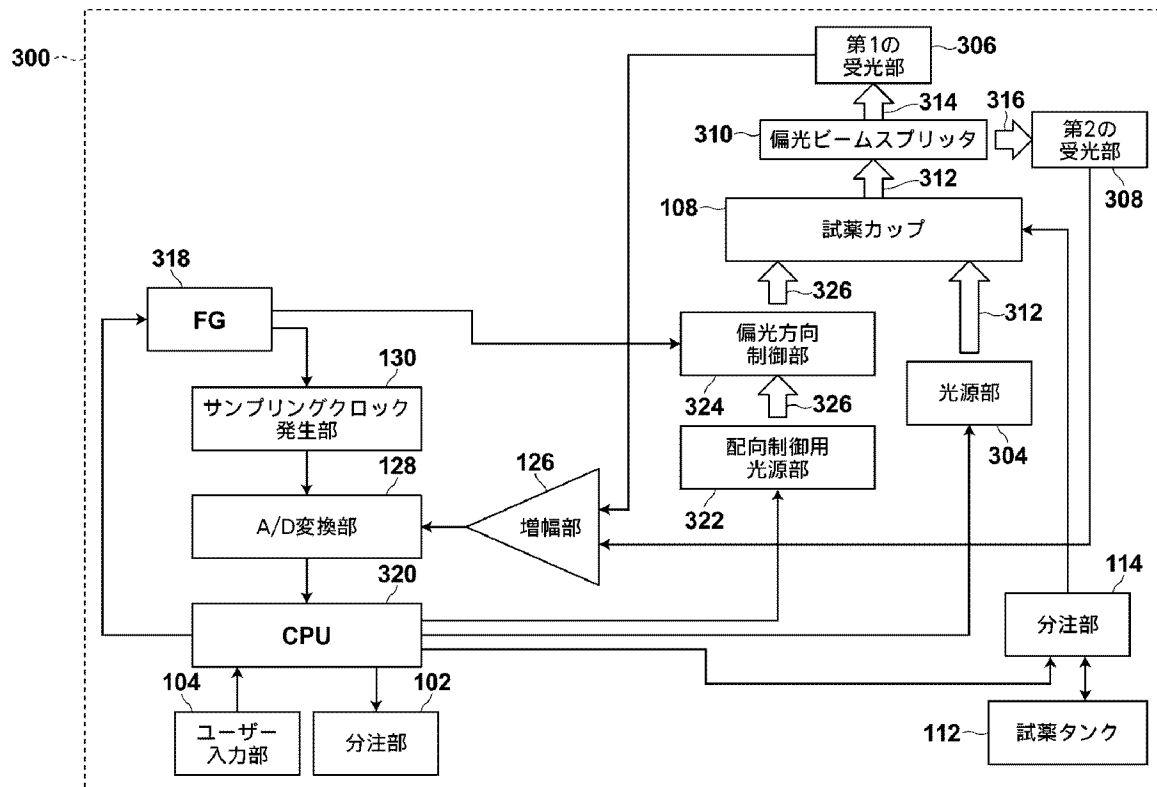
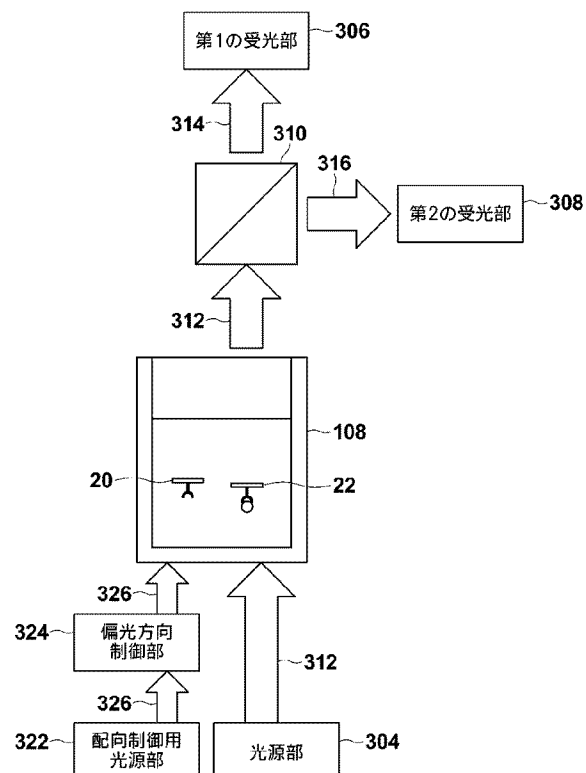
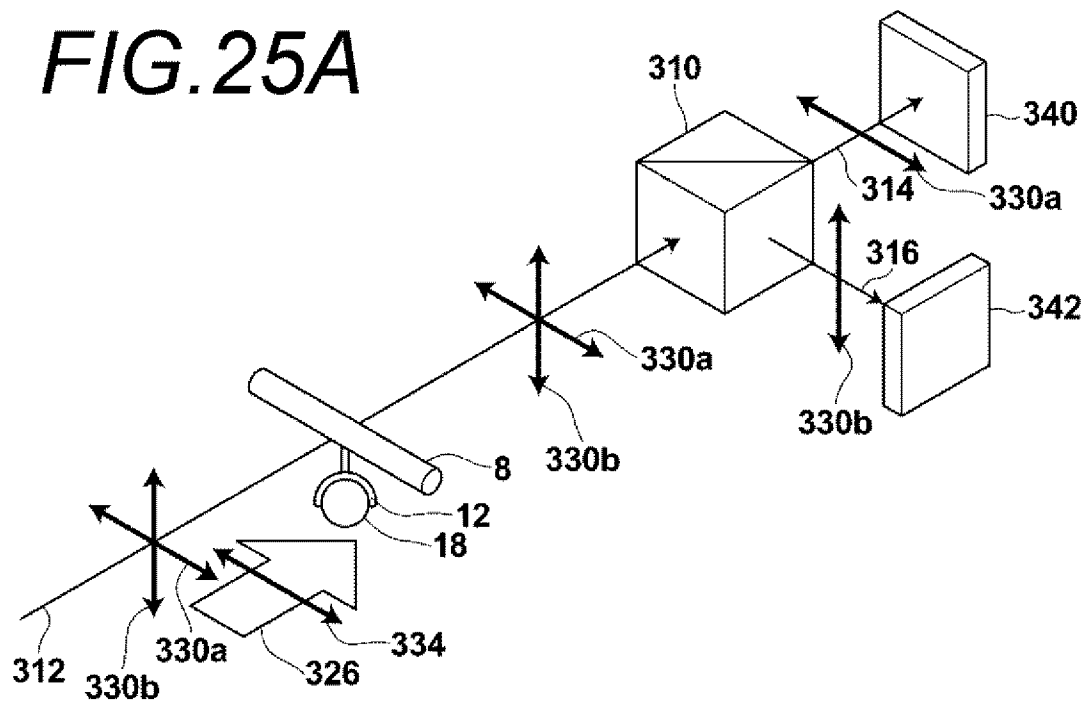
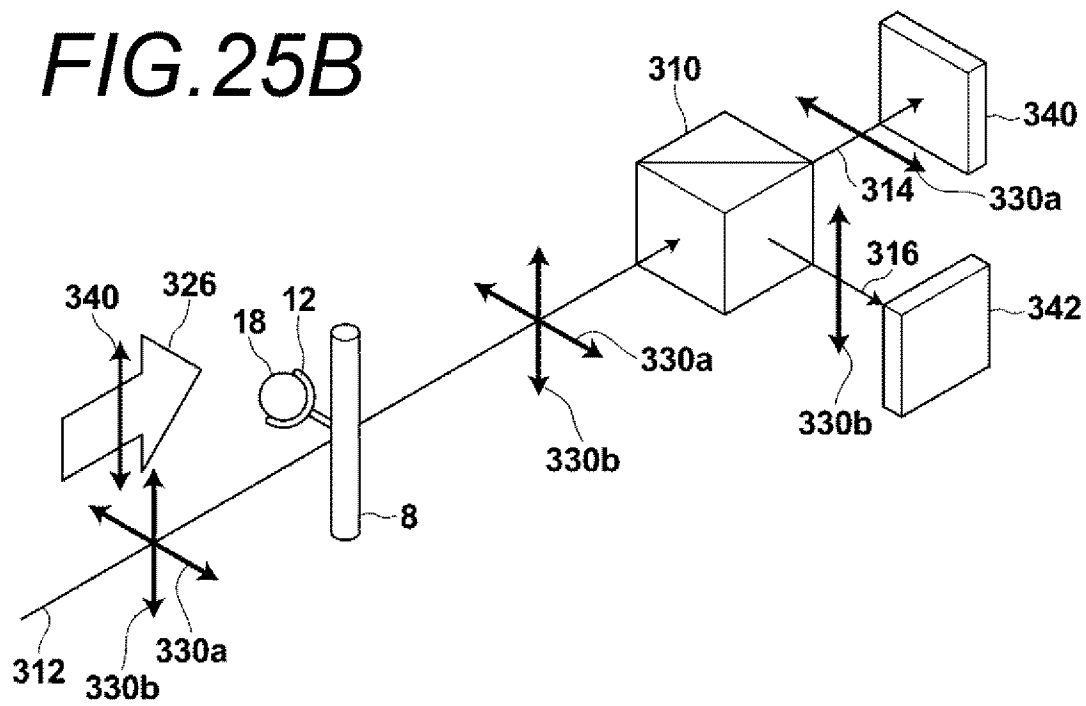


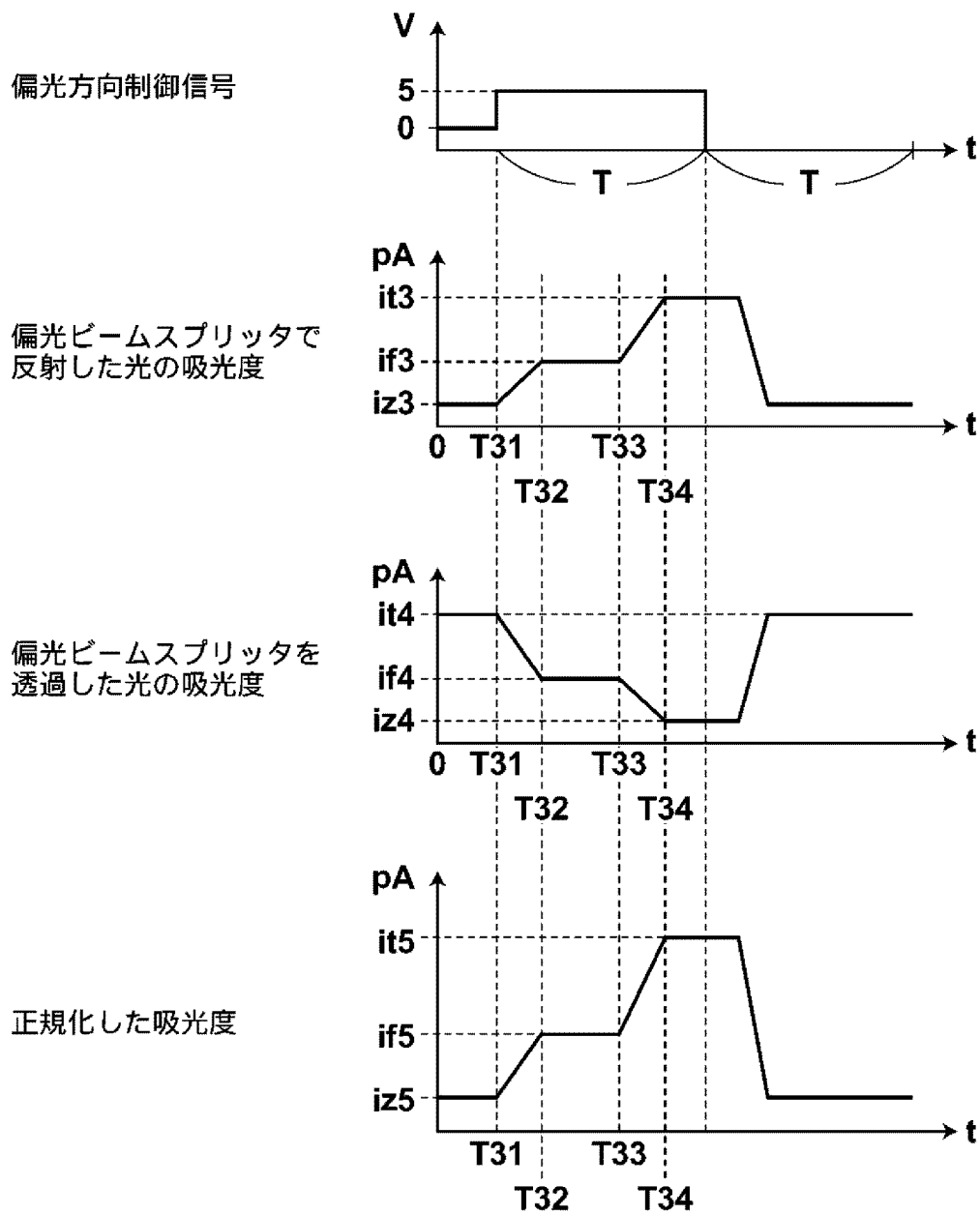
FIG.24B



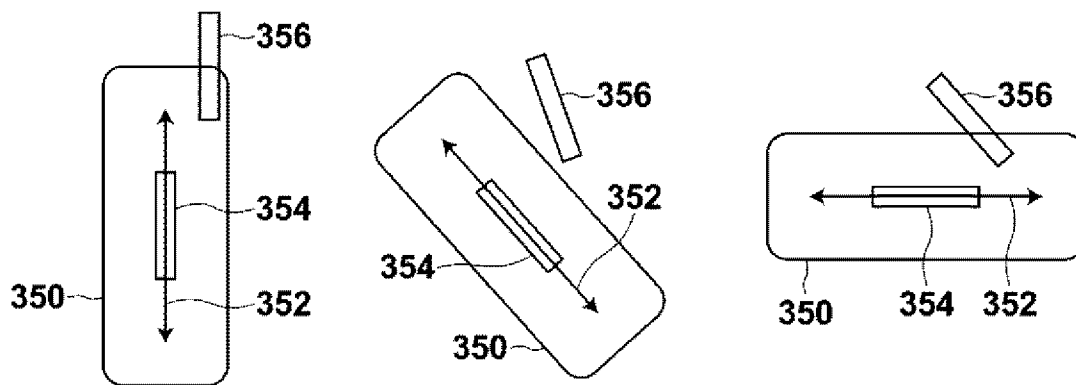
[図25]

FIG. 25A*FIG. 25B*

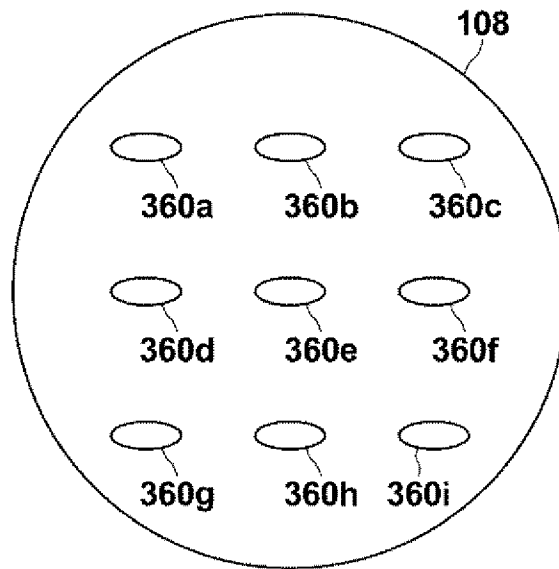
[図26]

FIG.26

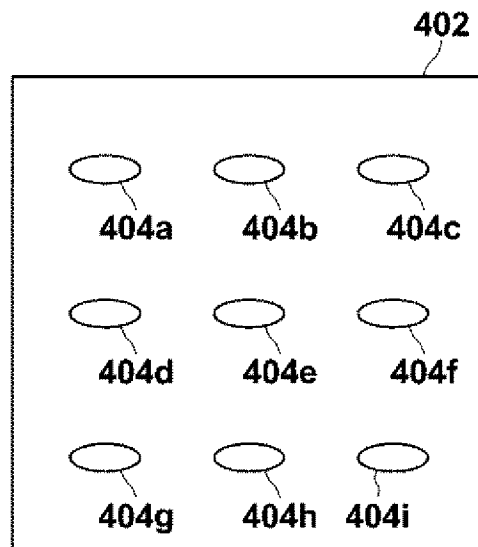
[図27]

FIG.27A FIG.27B FIG.27C

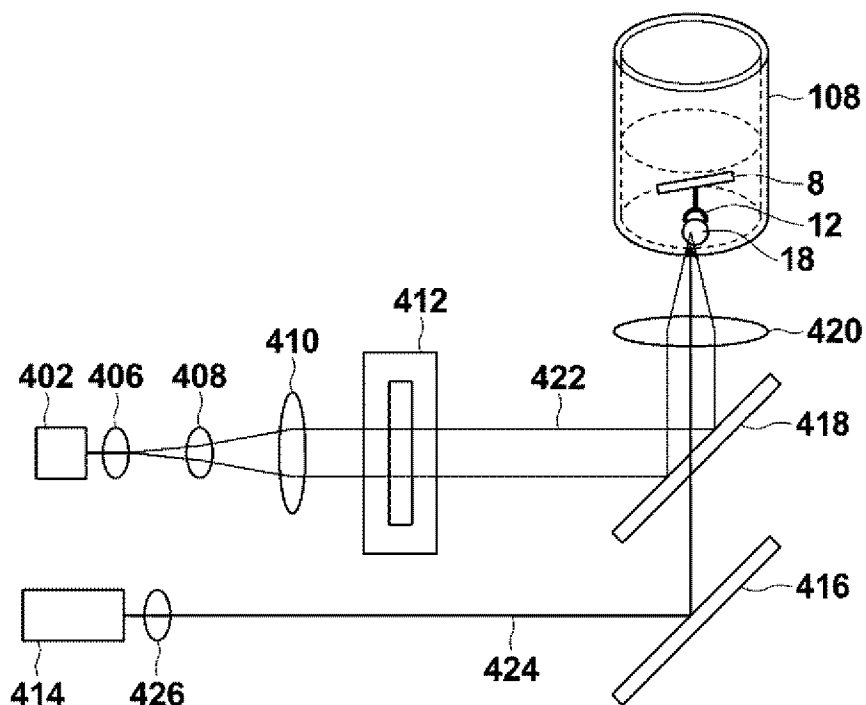
[図28]

FIG.28

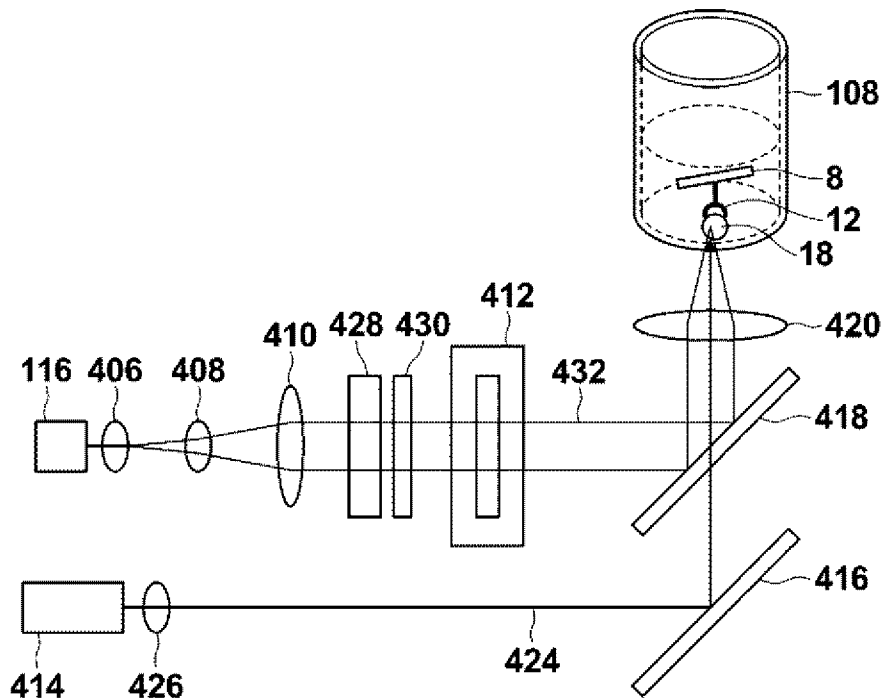
[図29]

FIG. 29

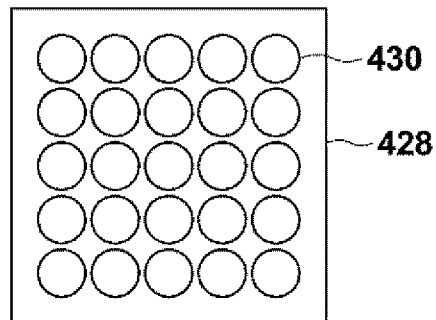
[図30]

FIG.30

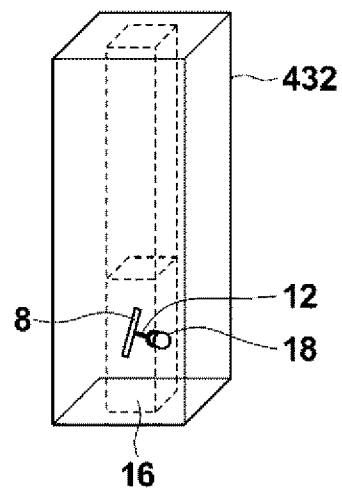
[図31]

FIG. 31

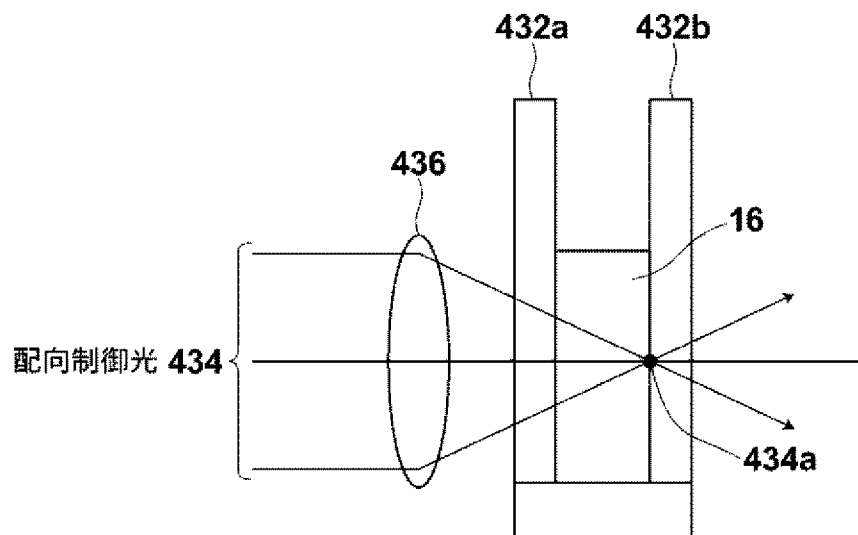
[図32]

FIG.32

[図33]

FIG.33

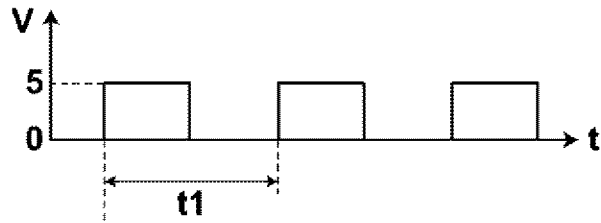
[図34]

FIG.34

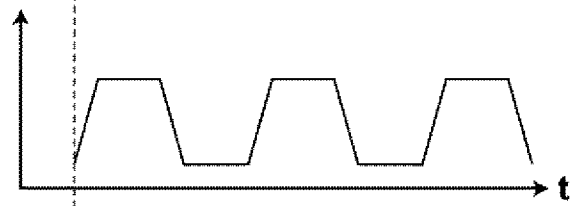
[図35]

FIG.35A

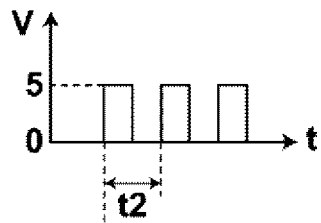
配向制御信号



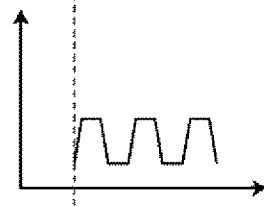
吸光度

**FIG.35B**

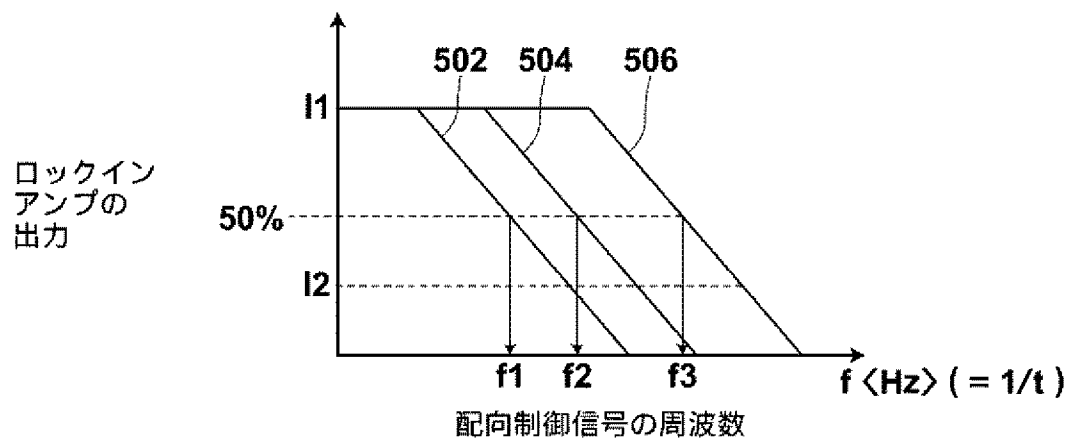
配向制御信号



吸光度



[図36]

FIG.36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/056882

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/27(2006.01)i, B82Y5/00(2011.01)i, B82Y15/00(2011.01)i, G01N21/21
(2006.01)i, G01N21/59(2006.01)i, G01N33/532(2006.01)i, G01N33/542
(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N21/00-21/61, G01N33/48-33/98, B82Y5/00, B82Y15/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

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

JSTPlus (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 4584352 B1 (Panasonic Corp.), 10 September 2010 (10.09.2010), claim 1; paragraph [0001] & US 2011/0001976 A1 & EP 2261639 A1 & WO 2010/119495 A1 & CN 102007396 A	1-19
A	JP 2010-509606 A (Biosurfit, S.A.), 25 March 2010 (25.03.2010), paragraphs [0007], [0033]; fig. 2 & US 2010/0039648 A1 & EP 2087343 A & WO 2008/060172 A1 & WO 2008/060172 B & DE 602007005685 D & PT 103606 B & AT 462965 T & ES 2343484 T	1-19

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

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
29 May, 2012 (29.05.12)

Date of mailing of the international search report
12 June, 2012 (12.06.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/056882

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2008-128893 A (Canon Inc.), 05 June 2008 (05.06.2008), paragraphs [0001], [0029], [0040], [0041] & US 2008/0117423 A1	1-19
A	JP 2007-248284 A (Canon Inc.), 27 September 2007 (27.09.2007), paragraphs [0001], [0035] to [0038] & US 2010/0195106 A1 & WO 2007/108453 A1	1-19
A	JP 2005-114633 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 28 April 2005 (28.04.2005), claim 1 (Family: none)	1-19
A	JP 2002-062218 A (Seiko Epson Corp., Nippon Laser Denshi Kabushiki Kaisha), 28 February 2002 (28.02.2002), paragraphs [0027], [0028] (Family: none)	1-19
A	Hironori HATTORI, Takuya IIDA, "Henko Bunpu o Design sareta Hikariba ni yoru Kinzoku Nano Ryushi Hairetsu Seigyo no Riron", 2010 Nen Shuki Dai 71 Kai Extended abstracts; the Japan Society of Applied Physics, 30 August 2010 (30.08.2010), page 03-163	1-19
A	Hiroshi NAKASHIMA, "Control of Gold Nanorod Arrays Through Self-assembly of Biomolecules", NTT Gijutsu Journal, vol.21, no.6, Nippon Telegraph and Telephone Corp., 2009.06, pages 28 to 31	1-19

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N21/27(2006.01)i, B82Y5/00(2011.01)i, B82Y15/00(2011.01)i, G01N21/21(2006.01)i,
G01N21/59(2006.01)i, G01N33/532(2006.01)i, G01N33/542(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. G01N21/00 - 21/61, G01N33/48 - 33/98, B82Y5/00, B82Y15/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 年

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

JSTPlus(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 4584352 B1 (パナソニック株式会社) 2010.09.10, 【請求項1】, 【0001】段落 & US 2011/0001976 A1 & EP 2261639 A1 & WO 2010/119495 A1 & CN 102007396 A	1 - 1 9
A	JP 2010-509606 A (ビオスルフイット ソシエダッド アノニマ) 2010.03.25, 【0007】, 【0033】段落, 【図2】 & US 2010/0039648 A1 & EP 2087343 A & WO 2008/060172 A1 & WO 2008/060172 B & DE 602007005685 D & PT 103606 B & AT 462965 T & ES 2343484 T	1 - 1 9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

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

の日の後に公表された文献

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

国際調査を完了した日

2 9 . 0 5 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

1 2 . 0 6 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

中村 祐一

2 W

4 4 0 5

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 9 2

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2008-128893 A (キヤノン株式会社) 2008.06.05, 【0001】, 【0029】, 【0040】, 【0041】段落 & US 2008/0117423 A1	1-19
A	JP 2007-248284 A (キヤノン株式会社) 2007.09.27, 【0001】, 【0035】-【0038】段落 & US 2010/0195106 A1 & WO 2007/108453 A1	1-19
A	JP 2005-114633 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2005.04.28, 【請求項1】 (ファミリーなし)	1-19
A	JP 2002-062218 A (セイコーエプソン株式会社、日本レーザ電子株式会社) 2002.02.28, 【0027】, 【0028】段落 (ファミリーなし)	1-19
A	服部祐徳、飯田琢也、偏光分布をデザインされた光場による金属ナノ粒子配列制御の理論, 2010年秋季第71回応用物理学会学術講演会「講演予稿集」, 2010.08.30, 第03-163頁	1-19
A	中島寛, 生体分子の自己組織化を用いた金ナノロッド配列構造制御, NTT技術ジャーナル, Vol.21, No.6, 日本電信電話株式会社, 2009.06, 第28-31頁	1-19