

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 2 月 20 日 (20.02.2003)

PCT

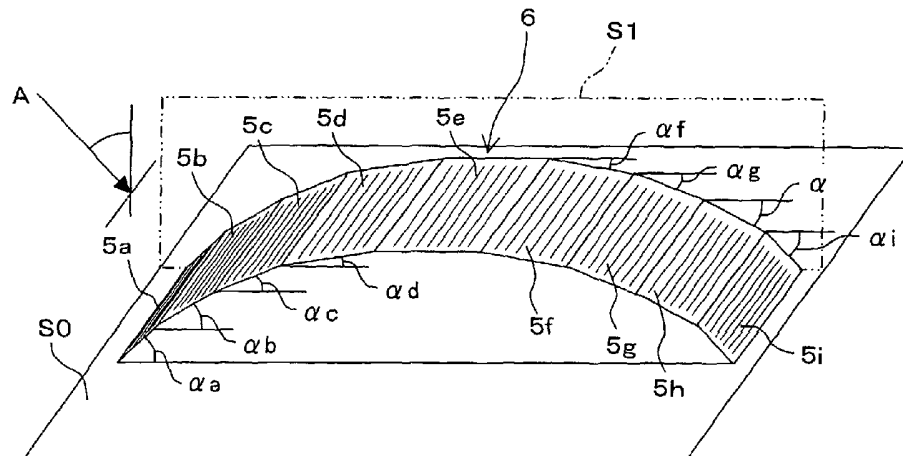
(10) 国際公開番号
WO 03/014711 A1

- (51) 国際特許分類: G01N 21/27 (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 宗林 孝明
(21) 国際出願番号: PCT/JP02/08091 (SORIN, Takaaki) [JP/JP]; 〒227-8502 神奈川県 横浜市 青葉区鴨志田町 1000番地 三菱化学株式会社内 Kanagawa (JP). 高山 英士 (TAKAYAMA, Hidehito) [JP/JP]; 〒227-8502 神奈川県 横浜市 青葉区鴨志田町 1000番地 三菱化学株式会社内 Kanagawa (JP). 長池 一博 (NAGAIKE, Kazuhiro) [JP/JP]; 〒227-8502 神奈川県 横浜市 青葉区鴨志田町 1000番地 三菱化学株式会社内 Kanagawa (JP).
(22) 国際出願日: 2002 年 8 月 7 日 (07.08.2002)
(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: (74) 代理人: 真田 有 (SANADA, Tamotsu); 〒180-0004 東京都 武蔵野市 吉祥寺本町 1 丁目 10 番 31 号 吉祥寺 広瀬ビル 5 階 Tokyo (JP).
特願2001-238883 2001 年 8 月 7 日 (07.08.2001) JP
特願2001-238884 2001 年 8 月 7 日 (07.08.2001) JP
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三菱化学株式会社 (MITSUBISHI CHEMICAL CORPORATION) [JP/JP]; 〒100-0005 東京都 千代田区 丸の内 2 丁目 5 番 2 号 Tokyo (JP).
(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,

[続葉有]

(54) Title: SURFACE PLASMON RESONANCE SENSOR CHIP, AND SAMPLE ANALYSIS METHOD AND ANALYSIS APPARATUS USING THE SAME

(54) 発明の名称: 表面プラズモン共鳴センサチップ、並びにそれを用いた試料の分析方法及び分析装置



(57) Abstract: A diffraction grating type sensor chip for sample analysis using the surface plasmon resonance (SPR), and an analysis method and an analysis apparatus using the sensor chip. The sensor chip (1) has a plurality of diffraction grating surfaces (5a to 5i) in the vicinity of a metal layer (3). Groove pitch and groove direction of the diffraction grating surfaces (5a to 5i) and arrangement angle with respect to a predetermined reference plane (S0) are so determined that the groove direction on a predetermined projection plane is identical and the groove pitch is different from each other. Thus, even when parallel light is applied, intensity of reflected light from the diffraction grating surfaces (5a to 5i) has differences in two-dimensional distribution. Accordingly, for the entire sensor surface, it is possible to calculate at real time a resonance angle according to the intensity of the reflected light from the diffraction grating surfaces (5a to 5i) and the substantial incident angle to the diffraction grating surfaces (5a to 5i). Moreover, when performing analysis according to an intensity change amount of the reflected light, it is possible to substantially increase the measurement range.

[続葉有]



LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI 特

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約:

本発明は、表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用した試料分析のための回折格子型のセンサチップの構造と、そのセンサチップを用いた分析方法及び分析装置に関する。本発明のセンサチップ(1)は、金属層(3)の近傍に複数の回折格子面(5a~5i)が設けられ、各回折格子面(5a~5i)は、所定の投影平面上における溝方向が同一で溝ピッチが互いに異なるように、回折格子の溝ピッチ及び溝方向並びに所定の基準平面(S0)に対する配置角度を設定されている。これにより、平行光を照射した場合でも回折格子面(5a~5i)から得られる反射光の強度に分布が生じるので、センサ面全体について回折格子面(5a~5i)から得られる反射光の強度と回折格子面(5a~5i)への実質的な入射角度とに基づき共鳴角度をリアルタイムで算出することができ、また、反射光の強度の変化量に基づき分析を行う場合において実質的に計測レンジを拡大することができる。

明細書

表面プラズモン共鳴センサチップ、並びにそれを用いた試料の分析方法及び分析装置

5

技術分野

本発明は、表面プラズモン共鳴（SPR）を利用した試料分析のための回折格子型のセンサチップ（表面プラズモン共鳴センサチップ）の構造に関し、特に、小型臨床機器やHPLC用検出器に用いて好適のセンサチップの構造と、それを用いて行う試料の分析方法及び分析装置に関する。

10

背景技術

従来、生化学や医療検査等の分野においては、化学種、生化学種又は生物種等の検出種を含む試料流体の定量的及び／又は定性的な分析方法として、表面プラズモン共鳴（SPR）を利用した分析方法が知られている。表面プラズモン共鳴は、金属層に光が入射した場合に金属表面に誘起される表面プラズモン波が入射光により生成されたエバネッセント波に共鳴して励起される現象である。表面プラズモン共鳴は入射光の波長及び角度に依存しており、表面プラズモン共鳴が励起されたときには、特定の入射角又は特定の波長を有する光成分の光エネルギーが表面プラズモン波へ移行することにより、対応する入射角又は波長を有する反射光が大きく減少するという特徴がある。

20

表面プラズモン共鳴を起こすためには、特定の表面プラズモン波を有する金属と、表面プラズモン波と共鳴するエバネッセント波を誘起する光学構造とが必要となる。エバネッセント波を誘起する光学構造として

25

は現在二つの構造が知られている。一つはプリズムの全反射を利用した光学構造であり、もう一つは回折格子を利用した光学構造である。上記の金属にこれらの光学構造を組み合わせた素子は一般に表面プラズモン共鳴センサチップ（以下、単にセンサチップという）と呼ばれている。

- 5 通常、センサチップは基体に金属層を積層した構造を有し、金属層上には、特定の検出種（被分析物）と相互作用して特異的に結合しうる結合物質(リガンド、分子認識素子)が塗布されて固定化される。この結合物質が固定化された金属層の表面に試料を接触させることにより、結合物質に試料中の検出種が捕捉される。表面プラズモン共鳴は金属層の表面
- 10 面における媒質の屈折率にも依存しており、媒質の屈折率が変化すれば波長一定の場合には共鳴角が変化し、また、入射角度一定の場合には共鳴波長が変化する。したがって、反射光の強度に基づき共鳴角或いは共鳴波長を調べることで金属層の表面における媒質の屈折率を分析することができる。この場合、金属層の表面の媒質の屈折率の変化は、結合物
- 15 質に捕捉される検出種の物質量、すなわち試料中の検出種の濃度の変化に対応していることから、表面プラズモン共鳴が起きる共鳴角或いは共鳴波長を調べることで、試料中の検出種の濃度等を分析することができる。

- このようなセンサチップのうち、プリズム型のセンサチップは、一般
- 20 にセンサチップ本体(透明基体上に金属層が積層されたもの)とプリズムとから構成されている。センサチップは基本的には使い捨てであるが、プリズムは高価であるためセンサチップ本体だけでなくプリズムまでも使い捨てにすると測定コストが非常に高くなってしまう。このため、この型のセンサチップでは、一般にセンサチップ本体とプリズムとが別で
- 25 、使用時にプリズムをセンサチップ本体に密着させてプリズムに光を入射し、反射光を検出し測定するようになっている。

一方、回折格子型のセンサチップは、表面に凹凸形状（グレーティング）を有する透明基体上に金属層を積層された構造となっている。凹凸形状上に金属層が積層されることで、金属層の表面にも凹凸形状が現れ、この金属層の表面の凹凸形状が回折格子として機能する。そして、高

5 次の回折光を利用して導体表面にエバネッセント波を生起させ、その表面進行波と金属表面の表面プラズモン波の波数及び角振動数が一致した時の共鳴による反射率の低下によって、金属表面又は金属表面に接する物質の性質が検出されるようになっている（特許 1 9 0 3 1 3 5 号，特許 2 5 0 2 2 2 2 号等参照）。

10 ここで図 5 1 は回折格子型のセンサチップにおける表面プラズモン波，エバネッセント波及び照射光の角振動数 ω と波数 k との関係を示す分散関係図である。図中、曲線 A 1，A 2 は表面プラズモン波の角振動数 ω と波数 k との関係を示しており、曲線 A 1 は曲線 A 2 よりも媒質の屈折率が大きい場合を示している。一方、直線 B 0 は照射光の角振動

15 数 ω と波数 k との関係を示し、直線 B 1 はこの照射光に対応する特定次数のエバネッセント波の角振動数 ω と波数 k との関係を示している。図 5 1 中、曲線 A 1 或いは A 2 と直線 B 1 との交点 P 1 1，P 1 2 が表面プラズモン共鳴が起きる共鳴ポイントを示し、その共鳴ポイントに対応する波長及び入射角が共鳴波長及び共鳴角度となる。この共鳴ポイントでは反射光の強度は極小値を示す。

20

この型のセンサチップは、プリズム型のような高価なプリズムを使用しないため安価であり、使い捨てが可能である。また、プリズム型のようにプリズムとセンサチップ本体を密着させる作業が不要なため、密着度合いのばらつきといった不具合もなく測定値の再現性が良いという利

25 点もある。

また、プリズム型のセンサチップではプリズムを入射光及び反射光の

経路とするという構造上、ビームの径やビームを照射できる領域に制約があるが、回折格子型のセンサチップにはこのような制約はなく、大径のビームを使用することができ、また任意の位置にビームを照射することができる。したがって、回折格子型のセンサチップはプリズム型に比較して一度に大面積を検査することができ、また、センサチップ上の任意の位置について検査することができるという利点がある。このような利点から、今日、回折格子型のセンサチップに対する期待が高まっている。

回折格子型のセンサチップを用いた試料の分析方法としては、入射角度一定の条件で共鳴波長を変化させて（或いは多成分の光を照射して）検出する分析方法と、入射波長一定の条件で共鳴角度を検出する分析方法とが一般的である。

このうち、前者の方法では、通常、白色光（多成分の光）を入射角度一定で照射し、各波長の反射光の反射率を計測することによって表面プラズモン共鳴による吸収ピークを計測する。反射率の計測は、通常、計測レンジの制約から図 5 1 中に示すように特定領域（角振動数 $\omega_1 \sim \omega_2$ ）の反射光について行われる。

ところが、表面プラズモン波は、金属層と試料（誘電体）のそれぞれの誘電率（すなわち屈折率）によって波数と振動数との関係が決まるため、試料の屈折率によっては、図 5 1 中に示す共鳴ポイント P 1 2 のように、共鳴ポイントが計測レンジから逸脱してしまう虞がある。特に、複数のスポットに異なる結合物質を固定化して幅広い誘電率（屈折率）の分布を持つ試料を検出する場合や、分析時に段階的に生成される新たな物質（例えば、酵素反応により生じる沈着色素など）により各スポットにおける誘電率（屈折率）が変化する場合において、これらのスポットを同時に計測を行うときには、共鳴現象が検出できるスポットと検出で

きないスポットが混在する虞がある。この場合は、全てのスポットについて共鳴現象を計測するために、入射角度を変更する等の光学系の再調整が必要になってしまう。

- 5 なお、全ての共鳴ポイントが計測レンジに入るように、計測レンジを
5 広げて波長帯を広く取るという考えもあるが、波長帯を広く取りすぎると、広範囲の波長が検出できるものの分解能が下がってしまうという新たな課題が生じてしまう。

一方、入射波長一定の条件で共鳴角度を検出する方法には、一般に次の4つの方法が知られている。

- 10 第1の方法は、入射光の入射角度を変化させながら（これを角度スキャンという）、反射光を検出する検出器の検出角度も同期して変化させていき、共鳴角を検出する方法である。

- 第2の方法は、第1の方法と同様に入射光の角度スキャンを行いながら、角度固定式の検出器（CCD等のアレー型検出器）を用いて反射光
15 を検出し、共鳴角を検出する方法である。

- 第3の方法は、入射光として楔形の光を照射し、検出器の検出角度を反射光の反射角度範囲内で変化させ、共鳴角を検出する方法である。即ち、図52（a）に示すように、光源502から単波長の光を所定の広がり角を持って照射し、これをセンサチップ501の金属層の表面に垂
20 直でない所定の角度で入射させ、その反射光を反射鏡503を介して光検出器（フォトダイオードアレイ）504で検出するようにしたものである。この場合は、図52（b）に示すようにセンサチップ501での入射位置に応じて照射光の入射角度が変わるので、結果的に角度 θa から角度 θb まで入射角度を連続的に変えながら単波長の光を照射したこ
25 とになる。

そして、第4の方法は、第3の方法と同様に入射光として楔形の光を

照射し、その反射光を角度固定式の検出器を用いて検出し、共鳴角を検出する方法である。

さらに、上記の方法に加え、入射角度、入射波長ともに一定の条件で行う分析方法も知られている。この方法（第5の方法）は、入射角度或いは入射波長に対する反射光の強度分布は、結合物質に捕捉された検出種の量、すなわち試料中の検出種の濃度に応じて変化することから、入射角度、入射波長一定の条件で反射光の強度を計測し、その条件における強度の変化量（試料に接していない状態からの変化量）に基づき濃度等を分析するようにしたものである。

10 しかしながら、上記の各分析方法には、それぞれ次のような課題がある。まず、第1、第2の方法では、入射光の角度スキャンを行うために光源の光軸角度を変化させるための駆動機構が必要となり、コストアップを招いてしまう。また、駆動機構を必要とするために装置が大型化してしまい、ホームユースやPOC（ポイントオブケア）等の用途には適用しにくい。また、m d e g r e e単位での角度制御が必要となるため、
15 十分な精度を得るのが難しいという課題もある。さらに、角度スキャンに時間がかかるため、非常に速い反応には追従することができず、リアルタイム測定には不向きである。また、光の照射角度に制限があるため、波長変化型と同様に計測レンジに制約が生じてしまう。

20 また、第3、第4の方法では、入射光の角度スキャンの必要はないものの、様々な角度からセンサチップ表面の測定点に光が入射するように、入射光の楔形の頂点を測定点にあてるようにする必要があるため、大面積の測定や一度に複数の測定点を同時に測定する多点同時測定には不向きである。このため、プロテインチップやDNAチップ等の集積化には
25 対応することはできず、上述した回折格子型のセンサチップの利点を十分に生かすことができない。さらに、上述の入射角一定で計測を行う

分析方法や上記第 1, 第 2 の方法と同様に、計測レンジに関する問題は依然としてあり、また、光学系が複雑で装置自体が大型化してしまうという課題もある。更に、反射鏡 503 が僅かに変形しただけで光路にずれが生じ、測定精度に影響を与えてしまうという課題もある。

- 5 さらに、第 5 の方法では、第 3, 第 4 の方法と同様に入射光の角度スキップの必要はなく、駆動機構を必要としない精度の高い分析が可能であるものの、表面プラズモン波のスペクトルの形状の特性から測定レンジ（測定許容範囲）が狭く、あまり広い濃度域に対しては有効ではない。このため、測定レンジを超えてしまった場合には、再度入射角度を再調整して反射光の強度変化を計測せねばならないという課題がある。

本発明は、このような課題に鑑み創案されたもので、その第 1 の目的は、簡単な光学系の構成によりリアルタイム測定と大面積の同時測定とを同時に実現可能にした表面プラズモン共鳴センサチップと、それを用いた試料の分析方法及び分析装置を提供することにある。

- 15 また、その第 2 の目的は、反射光の強度の変化量に基づき分析を行う場合において、測定レンジの拡大により広い濃度域の試料にも対応できるようにした表面プラズモン共鳴センサチップと、それを用いた試料の分析方法及び分析装置を提供することにある。

- 20 また、その第 3 の目的は、誘電率分布や屈折率分布が広範囲な場合でも、限られた計測レンジにおいて光学系の再調整を行うことなく試料の分析を行えるようにした、表面プラズモン共鳴センサチップ、並びにそれを用いた試料の分析方法及び分析装置を提供することにある。

- 25 また、その第 4 の目的は、簡単な光学系により単波長の光による試料の分析を可能にした、表面プラズモン共鳴センサチップ、並びにそれを用いた試料の分析方法及び分析装置を提供することにある。

発明の開示

上記の課題を解決すべく鋭意検討した結果、発明者は、表面プラズモン共鳴が生じる共鳴角度は、光の入射光から見た回折格子の溝ピッチに依存することから、光の入射方向から見た溝ピッチに分布を持たせることにより、上記の第1～第4の目的をともに達成できることを見出し、
5 本発明を完成した。

本発明の表面プラズモン共鳴センサチップは、光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起しうる金属層と、上記金属層の近傍に設けられ、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子が一定の溝方向及び溝ピッチで形成された複数の回折格子面とを備え、上記各回折格子面は、所定の投影平面上における溝方向が同一で溝ピッチが互いに異なるように、回折格子の溝ピッチ及び溝方向並びに所定の基準平面に対する配置角度を設定されていることを特徴としている。
10

これにより、投影面上における溝ピッチに分布が生じ、この分布に応じて表面プラズモン共鳴センサチップからの反射光の強度に分布が生じる。したがって、共鳴角度をリアルタイムで算出することが可能になる。
15

このような表面プラズモン共鳴センサチップとしては、以下の2つの好ましい形態がある。

20 まず、本発明の第1の表面プラズモン共鳴センサチップ（第1のセンサチップ）は、光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起しうる金属層と、上記金属層の近傍に形成され、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子が一定の溝方向及び溝ピッチで形成された複数の回折格子面とを備え、上記各回折格子面は、所定の基準平面に垂直な
25 特定平面に対して垂直で且つ上記基準平面に対してそれぞれ所定の傾斜角度をなして配置されるとともに、それぞれ上記特定平面に垂直な溝方

向で回折格子が形成されていることを特徴としている。

- このような構成により、上記特定平面に平行に一定の方向から光（平行光）を照射したときには、各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度に応じて各回折格子面への照射光の入射角度に分布が生じ、換言すれば
- 5 、光の入射方向から見たときの各回折格子面の溝ピッチに分布が生じ、各回折格子面から得られる反射光の強度にも分布が生じる。したがって、各回折格子面から得られる反射光の強度と各回折格子面への実質的な入射角度とに基づき、共鳴角度をリアルタイムで算出することが可能になる。つまり、上記のような構成のセンサチップを用いることにより、
- 10 角度スキャンや楔形の光の照射によることなく、同時に複数の角度から光を照射する場合と同様の効果が得られる。

- なお、回折格子面が特定平面に平行な方向に複数配置される場合には、特定平面に平行な一方向から見たときの基準平面に対する傾斜角度が次第に小さくなるように各回折格子面を順に配置するのが好ましい。
- 15 これにより、各回折格子面からの反射光が交錯することがなく、各回折格子面からの反射光の強度の分析が容易になる。

- また、上記回折格子面を、光が照射される側に凸の山状に連続して配置することが好ましい。これにより、回折格子面の各位置からの反射光が交錯することがなく、回折格子面の各位置からの反射光の強度の分析
- 20 が容易になる。

また、上記回折格子は、一つの溝のみを有する最小幅に形成され、上記回折格子面の集合により光が照射される側に凸の弧状の曲面が構成されるようにしてもよい。

- また、回折格子面が集約して配置される回折領域を複数設け、各回折
- 25 領域には異なる傾斜角度の回折格子面を複数配置するのも好ましい。この場合は、特定平面に平行に一定の方向から光を照射するだけで各回折

領域における共鳴角度を同時に検出することができるので、各回折領域に対応して結合物質を固定化することによって多点同時測定を容易に行うことができる。

上記の第1のセンサチップにおいて、各回折格子面は試料と接するセンサ面に沿って設けられている。そして、第1のセンサチップを試料の定量的及び／又は定性的な分析に用いる場合には、センサ面に試料中の検出種（化学種、生化学種又は生物種等）と特異的に結合する結合物質（抗原抗体反応、相補的DNA結合、リセプター／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用によって検出種を捕捉できる物質）を固定化したものを用いる。特に、多点同時測定用のセンサチップの場合には、各回折領域に対応して結合物質を複数種固定化したものを用いることによって、同時に複数種の検出種について分析が可能になる。

また、上記結合物質を上記回折格子面毎に複数種固定化しても良い。

また、上記センサ面に、回折格子が形成されていない非回折面を上記各回折格子面と同一平面状に設けてもよい。

また、上記各回折領域に対応して、上記回折格子が形成されていない非回折面が集約した非回折領域を設け、上記非回折領域を構成する各非回折面を、対応する回折領域を構成する各回折格子面の上記基準平面に対する傾斜角度の分布と同一の、上記基準平面に対する傾斜角度の分布を有するよう形成してもよい。

また、上記回折面毎に、上記結合物質が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを設けてもよい。

また、上記各回折領域のうちの一部に、試料中の検出種と特異的に結合する結合物質が固定化された反応領域を設け、他の回折領域には、試料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質が固定化されるか、或い

は何ら物質が固定化されていない非反応領域を設けてもよい。

また、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、上記センサ面を覆う蓋を設け、上記センサ面と上記蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成しても良い。

- 5 また、上記センサ面を覆う蓋を備えると共に、上記センサ面と上記蓋との間に複数の流路を並列して形成し、上記各流路毎に、上記回折領域を設けてもよい。

- 第1のセンサチップを用いて行う試料の分析方法には、次の8つの方法がある。第1の分析方法は共鳴角度を算出して共鳴角度に基づき試料
10 の分析を行う分析方法であり、この分析方法では、センサ面に試料を接触させて特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき共鳴角度を算出するステップ、算
15 出された共鳴角度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

- この場合、角度スキャンによることなく瞬時に共鳴角度を算出することができるので、リアルタイム測定が可能になるとともに、楔形の光の照射によることなく共鳴角度を算出することができるので、一度に大面
20 積を測定することも可能になる。したがって、回折格子面が集約配置された回折領域が複数設けられた多点同時測定用のセンサチップを用いた場合には、多点同時測定をリアルタイムに行うこともできる。また、光源の光軸は一定でよく且つ平行光でよいので光学系も簡単にすることができる。なお、これらの各ステップは記載順に実行してもよく、同時に
25 実行してもよい。特に、各ステップを同時に実行する場合には、試料中の検出種が結合物質に結合していく様子をリアルタイムでモニタするこ

とができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第1のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、算出手段と分析手段とを備えている。算出手段は、計測手段により計測された各回折格子面からの反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき共鳴角度を算出する手段であり、分析手段は、算出手段により算出された共鳴角度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第2の分析方法は、共鳴角度を算出して共鳴角度に基づき試料の分析を行う分析方法であり、回折格子が形成されていない非回折面を各回折格子面と同一平面状に設けられた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、センサ面に試料を接触させて、特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、非回折面からの反射光の強度を考慮して、各回折格子面からの反射光の強度を補正するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を算出するステップ、算出された共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

ここで、補正の際に考慮すべき反射光を反射している非回折面は、補正しようとする反射光が反射している回折格子面と同じ、上記基準平面に対する傾斜角度を有していなくてはならない。したがって、同一平面状に回折格子面と非回折面とが存在していない場合には、各回折格子面
5 に対応する非回折面を特定し、その非回折面からの反射光を考慮して補正を行う必要がある。

この場合、第1の分析方法と同様の利点の他、非回折面からの反射光の強度を考慮して各回折格子面からの反射光の強度を補正するため、各回折格子面の表面特性の差による反射光の強度の誤差を補正することが
10 できる。

なお、表面特性とは、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象以外のセンサチップ表面にかかる要素のうち、センサチップからの反射光強度を弱めるものをいう。例えば、入射光を散乱させる試料溶液の濁りや、試料溶液中に含まれる入射光の吸収物質などの、センサチッ
15 プからの反射光を弱める要素や、ゆがみ、たわみ、膨潤、収縮など微量な理想平面からの変位のことをいう。また他にも、試料中の成分がセンサチップ表面に非特異的に吸着する場合には、この非特異的に吸着した物質によって入射光は散乱されたり吸収されたりして、センサチップからの反射光の強度は減少する。

20 この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第1のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各
25 回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、

さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、補正手段と算出手段と分析手段とを備えている。補正手段は、非回折面からの反射光の強度を考慮して、各回折格子面からの反射光の強度を補正する手段であり、算出手段は、補正手段により
5 補正された各回折格子面からの反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき共鳴角度を算出する手段であり、分析手段は、算出手段により算出された共鳴角度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第3の分析方法は、共鳴角度を算出して共鳴角度に基づき試料の分析
10 を行う分析方法であり、上記結合物質が固定化された反応領域と、資料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質が固定化されるか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを備えた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法は、センサ面に試料を接触させて、特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップ、センサ
15 面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて算出するステップ、算出された反応領域における共鳴
20 角度を非反応領域における共鳴角度を考慮して補正した共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第1の分析方法と同様の利点の他、反応領域における共鳴角度を非反応領域における共鳴角度で補正するため、反応によって生じる検出種の変化をより正確に分析することができる。

25 なお、この方法における補正は、単なる反射光の強度の補正ではなく、検出しようとする特異的反応ではない要素による共鳴角度のシフトを

用いて行う反応量の補正であるため、共鳴角度が求められるならば必ずしも反応領域と非反応領域とが上記基準平面に対して同じ傾斜角度を有していなくてもよい。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第1のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、算出手段と分析手段とを備えている。算出手段は、計測手段により計測された各回折格子面からの反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を反応領域及び非反応領域それぞれについて算出する手段であり、分析手段は、算出手段により算出された反応領域における共鳴角度を非反応領域における共鳴角度を考慮補正した共鳴角度に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第4の分析方法は、共鳴角度を算出して共鳴角度に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、センサ面を覆う蓋を設け、センサ面と蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成した表面プラズモン共鳴センサチップか、又は、センサ面を覆う蓋を備えると共に、センサ面と蓋との間に複数の流路を並列して形成し、流路毎に、回折領域を設けた表面プラズモン共鳴センサチップかを用いる。この分析方

法では、異なる複数の試料を複数の流路に割り当て、各流路に割り当てられた試料を流しながら特定平面に平行に一定の入射角度でセンサ面に光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度と回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている共鳴角度を、各流路を流れる試料毎に算出するステップ、流路毎に算出された共鳴角度に基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

- 10 この場合、第 1 の分析方法と同様の利点の他、複数の試料を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の試料を同じ条件下で分析できるため、試料の違いを明確に分析することができる。

- 15 この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第 1 のセンサチップを保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップに、試料導入手段により異なる複数の試料をセンサチップ上の複数の流路に割り当てて導入し、試料導入手段により各流路に試料が導入された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に
- 20 一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、算出手段と分析手段とを備えている。算出手段は、計測手段により
- 25 計測された各回折格子面からの反射光の強度と各回折格子面の基準平面に対する傾斜角度とに基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波と

の共鳴現象が生じる共鳴角度を各流路毎について算出する手段であり、分析手段は、算出手段により算出された各流路における共鳴角度に基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

- 5 第5の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、この分析方法では、センサ面に試料を接触させて特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された上記各回折格子面からの
- 10 反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップ、測定した変化量が所定の測定許容範囲（測定レンジ）内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。
- 15 これにより、試料の濃度域が広い場合でも測定値が測定レンジ内に入るように光学系を再調整する必要がなく、実質的に測定レンジを拡大することが可能になる。なお、この場合も各ステップは記載順に実行してもよく、同時に実行してもよい。

- この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第1のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、
- 20 さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析
- 25

するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第6の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、回折格子が形成されていない非回折面を各回折格子面と同一平面状に設けられた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、センサ面に試料を接触させて特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された上記各非回折格子面からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面からの反射光の強度を補正するステップ、補正された各回折格子面からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップ、測定した変化量が所定の測定許容範囲（測定レンジ）内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

なお、第2の分析方法と同様に、補正の際に考慮すべき反射光を反射している非回折面は、補正しようとする反射光が反射している回折格子面と同じ、上記基準平面に対する傾斜角度を有していなくてはならない。したがって、同一平面状に回折格子面と非回折面とが存在していない場合には、各回折格子面に対応する非回折面を特定し、その非回折面からの反射光を考慮して補正を行う必要がある。

この場合、第 5 の分析方法と同様の利点の他、非回折面からの反射光の強度を考慮して各回折格子面からの反射光の強度を補正するため、各回折格子面の表面特性の差による反射光の強度の誤差を補正することができる。

- 5 この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第 1 のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各
- 10 回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、補正手段と測定手段と分析手段とを備えている。補正手段は、非回折面からの反射光の強度を考慮して、各回折格子面
- 15 からの反射光の強度を補正する手段であり、測定手段は、補正手段により補正された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変
- 20 化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

- 第 7 の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記結合物質が固定化された反応領域と、資料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質が固定化されるか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを備えた表
- 25 面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、センサ面に試料を接触させて特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するス

- チップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定するステップ、測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。
- 10 なお、第3の方法と同様に、この方法における補正は、単なる反射光の強度の補正ではなく、検出しようとする特異的反応ではない要素による共鳴角度のシフトを用いて行う反応量の補正であるため、共鳴角度が求められるならば必ずしも反応領域と非反応領域とが上記基準平面に対して同じ傾斜角度を有していなくてもよい。
- 15 この場合、第5の分析方法と同様の利点の他、反応領域における共鳴角度を非反応領域における共鳴角度で補正するため、反応によって生じる検出種の変化をより正確に分析することができる。
- 20 この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第1のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、
- 25 さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段

は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量と選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第 8 の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、センサ面を覆う蓋を設け、センサ面と蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成した表面プラズモン共鳴センサチップか、又は、センサ面を覆う蓋を備えると共に、センサ面と蓋との間に複数の流路を並列して形成し、流路毎に、回折領域を設けた表面プラズモン共鳴センサチップかを用いる。この分析方法では、異なる複数の試料を複数の流路に割り当て、各流路に割り当てられた試料を流しながら特定平面に平行に一定の入射角度でセンサ面に光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度の、各流路に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップ、計測された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を流路毎に選定し、流路毎に選定された回折格子面からの反射光の強度の変化量に基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第 5 の分析方法と同様の利点の他、複数の試料を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の試料を同

じ条件下で分析できるため、試料の違いを明確に分析することができる。
。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第1のセンサチップを保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップに、試料導入手段により異なる複数の試料をセンサチップ上の複数の流路に割り当てて導入し、試料導入手段により各流路に試料が導入された状態のセンサチップのセンサ面に向けて特定平面に平行に一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、上記各流路に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を流路毎に選定し、選定した回折格子面からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

さらに、上述の各分析方法において、表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離ステップを行ってもよい。

これにより、試料中に検出種以外の不純物が混入していたとしても、分析前に適正に除去することができ、純粋な検出種のみを分析することができる。したがって、正確な分析を行うことが可能となる。

また、これらの分析手段で通常用いられている検出方法（吸光度検出

、蛍光検出、化学発光検出、示差屈折計検出、電気化学検出など）と組み合わせることにより、各種の存在物質の存在量と、その中での検出対象種の特異的反応計測による測定とを同時に行うことができる。

この分析方法は、上述の分析装置の構成に加え、表面プラズモン共鳴
5 センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離手段を有するように構成した分析装置を用いることで実施できる。

試料分離手段としては、液体クロマトグラフィー、HPLC、キャピ
ラリー電気泳動、マイクロチップ電気泳動、フローインジェクション或
10 いはマイクロチャネルを用いた分離方法の何れかの手法により試料を分離することが望ましい。

また、上述の各分析方法において、検出種が発光物質である場合に、
センサ面に光を照射するに先立ち、或いは、センサ面に光を照射して反
射光を受光した後、結合物質に結合した発光物質の発光光を検出するス
15 テップを備え、分析ステップでは、発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うようにしてもよい。

これにより、表面プラズモン共鳴のみでなく、発光現象を利用した分析を行えるようになる。蛍光や燐光等の発光現象は非常に高感度であるため、より微小な反応も検出することが可能となる。

20 この分析手段は、上述の分析装置の構成に加えて、検出種が発光物質である場合に、受光手段が結合物質に結合した発光物質の発光光も検出可能に構成され、分析手段が、受光手段による発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うように構成した分析装置を用いることで実施できる。

25 次に、本発明の第2の表面プラズモン共鳴センサチップ（第2のセンサチップ）は、光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起しうる金

属層と、上記金属層の近傍に形成され、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子が一定の溝方向及び溝ピッチで形成された複数の回折格子面とを備え、上記各回折格子面は、所定の基準平面に平行に設けられ、上記各回折格子面には同一の溝方向で且つ互いに異なる溝ピッチで回折格子が形成されていることを特徴としている。

このような構成により、一定の方向から光（平行光）を照射したときには、各回折格子面の溝ピッチに応じた波数と各振動数との関係を有するエバネッセント波が生じる。これにより、一つの表面プラズモン波に対して角振動数の異なる複数の共鳴ポイントにおいて共鳴現象が生じることになる。したがって、各回折格子面から得られる反射光の強度と各回折格子面の溝ピッチとに基づき、複数の共鳴ポイントをリアルタイムで算出することが可能になる。つまり、上記のような構成のセンサチップを用いることにより、簡単な光学系によって複数の共鳴ポイントを検出することができる。

上記の第2のセンサチップにおいて、各回折格子面は試料と接するセンサ面に沿って設けられている。そして、第2のセンサチップを試料の定量的及び／又は定性的な分析に用いる場合には、センサ面に試料中の検出種（化学種、生化学種又は生物種等）と特異的に結合する結合物質（抗原抗体反応、相補的DNA結合、リセプター／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用によって検出種を捕捉できる物質）を固定化したものを用いる。特に、多点同時測定用のセンサチップの場合には、各領域に対応して結合物質を複数種固定化したものを用いることによって、同時に複数種の検出種について分析が可能になる。

また、上記センサ面に、回折格子が形成されていない非回折面を上記各回折格子面と同一平面上に設けてもよい。

また、上記回折格子面毎に、上記結合物質が固定化された反応領域と

、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、
或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを設けても良い。

また、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、
上記センサ面を覆う蓋を設け、上記センサ面と上記蓋との間に、上
5 記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成しても良い。

また、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、
上記センサ面を覆う蓋を設け、上記センサ面と上記蓋との間に、上
記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成し、さらに、
上記各流路の回折格子面毎に、上記結合物質が固定化された反応領域と
10 、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、
或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを設けても良い。

さて、第2のセンサチップを用いて行う試料の分析方法には、次の1
0 個の方法がある。

第1の分析方法は共鳴する溝ピッチを算出して共鳴する溝ピッチに基
15 づき試料の分析を行う分析方法であり、この分析方法では、センサ面に
試料を接触させて一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子
面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を
計測するステップ、計測された反射光の強度に基づき、上記エバネッセ
ント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特
20 定するステップ、上記特定された溝ピッチに基づき、試料の定量的及び
／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、瞬時に複数の共鳴ポイントを算出することができるので、
リアルタイム測定が可能になるとともに、誘電率分布や屈折率分布が広
範囲な場合でも、光学系の再調整を行うことなく試料の分析を行うこと
25 ができる。したがって、回折格子面が集約配置された領域が複数設けら
れた多点同時測定用のセンサチップを用いた場合には、多点同時測定を

リアルタイムに行うこともできる。また、光源の光軸は一定でよく且つ平行光でよいので光学系も簡単にすることができる。なお、これらの各ステップは記載順に実行してもよく、同時に実行してもよい。特に、各ステップを同時に実行する場合には、試料中の検出種が結合物質に結合していき様子をリアルタイムでモニタすることができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、分析手段を備えている。分析手段は、計測手段により計測された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定し、上記特定された溝ピッチに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第2の分析方法は、共鳴する溝ピッチを算出して共鳴する溝ピッチに基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記センサ面に、回折格子が形成されていない非回折面を上記各回折格子面と同一平面上に設けた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法は、センサ面に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、非回折面からの反射光の強度を考慮して、各回折格子面からの反射光の強度を補正するステップ、補正された各回折格子面からの反

射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定するステップ、上記特定された溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

- 5 この場合、第1の分析方法と同様の利点の他、非回折面からの反射光の強度を考慮して各回折格子面からの反射光の強度を補正するため、各回折格子面の表面特性の差による反射光の強度の誤差を補正することができる。

- なお、表面特性とは、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴
10 現象以外のセンサチップ表面にかかる要素のうち、センサチップからの反射光強度を弱めるものをいう。例えば、入射光を散乱させる試料溶液の濁りや、資料用液中に含まれる入射光の吸収物質などの、センサチップからの反射光を弱める要素や、ゆがみ、たわみ、膨潤、収縮など微量な理想平面からの変位のことをいう。また他にも、試料中の成分がセン
15 サチップ表面に非特異的に吸着する場合には、この非特異的に吸着した物質によって入射光は散乱されたり吸収されたりして、センサチップからの反射光の強度は減少する。

- この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセ
20 ンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装
25 置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、補正手段と分析手段とを備えている。補正手段は、非回折面から

の反射光の強度を考慮して、各回折格子面からの反射光の強度を補正する手段であり、分析手段は、補正手段により補正された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定し、上記特定された溝ピ
5 ッチに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第3の分析方法は、共鳴する溝ピッチを算出して共鳴する溝ピッチに基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面毎に、結合物質が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、或いは何ら物質が固定化されていない非反
10 応領域とを設けた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法は、センサ面に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生
15 じている溝ピッチを反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定するステップ、特定された反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第1の分析方法と同様の利点の他、反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピッチに基づいて分析を行うため、反応によって生じる検出種の変化をより正確に分析することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持
25 し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの

- 反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、分析手段を備えている。分析手段は、計測手段により計測された
- 5 各回折格子面からの反射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを反応用域及び非反応領域それぞれについて特定し、上記特定された反応用域及び非反応領域それぞれの溝ピッチに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。
- 10 第4の方法は、共鳴する溝ピッチを算出して共鳴する溝ピッチに基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、センサ面を覆う蓋を設け、センサ面と蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成した表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、
- 15 異なる複数の試料を複数の流路に割り当て、各流路に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度でセンサ面に光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピ
- 20 ッチを、各流路を流れる試料毎に特定するステップ、流路毎に特定された溝ピッチに基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第1の分析方法と同様の利点の他、複数の検出種を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の検出種

25 を同じ条件下で分析できるため、検出種の違いを明確に分析することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップを保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップに、試料導入手段により異なる複数の試料をセンサチップ上の複数の流路に割り当てて導入し、試料導入手段により各流路に試料が導入された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、分析手段を備えている。分析手段は、計測手段により計測された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを各流路毎について特定し、上記流路毎に特定された溝ピッチに基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第5の分析方法は、共鳴する溝ピッチを算出して共鳴する溝ピッチに基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、センサ面を覆う蓋を設け、センサ面と蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成し、さらに、各流路の回折格子面毎に、結合物質が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを設けた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、異なる複数の試料を複数の流路に割り当て、各流路に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度でセンサ面に光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測する

ステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを、各流路を流れる試料毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定するステップ、流路毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定された溝ピッチに基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第1の分析方法と同様の利点の他、複数の検出種を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の検出種を同じ条件下で分析できるため、検出種の違いを明確に分析することができる。また、反応によって生じる検出種の変化を各流路においてより正確に分析することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップを保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップに、試料導入手段により異なる複数の試料をセンサチップ上の複数の流路に割り当てて導入し、試料導入手段により各流路に試料が導入された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、分析手段を備えている。分析手段は、計測手段により計測された各回折格子面からの反射光の強度に基づき、エバネッセント波と表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを各流路毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定し、上記流路毎に特定された反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピッチに基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は

は定性的な分析を行う手段である。

第 6 の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、この分析方法では、センサ面に試料を接触させて一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された上記各回折格子面からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップ、測定した変化量が所定の測定許容範囲（測定レンジ）内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

これにより、試料の濃度域が広い場合でも測定値が測定レンジ内に入るように光学系を再調整する必要がなく、実質的に測定レンジを拡大することが可能になる。なお、この場合も各ステップは記載順に実行してもよく、同時に実行してもよい。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第 2 のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であ

り、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第7の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記センサ面に、回折格子が形成されていない非回折面を上記各回折格子面と同一平面上に設けた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、センサ面に試料を接触させて一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された上記各非回折格子面からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面からの反射光の強度を補正するステップ、補正された各回折格子面からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップ、測定した変化量が所定の測定許容範囲（測定レンジ）内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第6の分析方法と同様の利点の他、非回折面からの反射光の強度を考慮して各回折格子面からの反射光の強度を補正するため、各回折格子面の表面特性の差による反射光の強度の誤差を補正することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によ

って計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、補正手段と測定手段と分析手段とを備えている。補正手段は、非回折面からの反射光の強度を考慮して、各回折格子面からの反射光の強度を補正する手段であり、測定手段は、補正手段により補正された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量に基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第8の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面毎に、結合物質が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを設けた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、センサ面に試料を接触させて一定の入射角度で光を照射するステップ、各回折格子面からの反射光を受光し、受光した各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定するステップ、測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第6の分析方法と同様の利点の他、反応領域及び非反応領

域のそれぞれの溝ピッチに基づいて分析を行うため、反応によって生じる検出種の変化をより正確に分析することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、選定した回折格子面からの反射光強度の変化量と選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

第9の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、センサ面を覆う蓋を設け、センサ面と蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成した表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、異なる複数の試料を複数の流路に割り当て、各流路に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度でセンサ面に光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を

計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度の、各流路に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップ、測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を流路毎に選定し、流路毎に選定された回折格子面からの反射光の強度の変化量に基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。

この場合、第6の分析方法と同様の利点の他、複数の検出種を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の検出種を同じ条件下で分析できるため、検出種の違いを明確に分析することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップを保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップに、試料導入手段により異なる複数の試料をセンサチップ上の複数の流路に割り当てて導入し、試料導入手段により各流路に試料が導入された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、上記各流路に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を流路毎に選定し、選定した回折格子面からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

- 第 10 の分析方法は、反射光の強度の変化量を測定して強度変化量に基づき試料の分析を行う分析方法であり、上記回折格子面を溝方向に垂直な方向に並んで配置するとともに、センサ面を覆う蓋を設け、センサ面と蓋との間に、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路を並べて形成し、さらに、各流路の回折格子面毎に、結合物質が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合を起こさない物質とを固定化するか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とを設けた表面プラズモン共鳴センサチップを用いる。この分析方法では、異なる複数の試料を複数の流路に割り当て、各流路に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度でセンサ面に光を照射するステップ、センサ面からの反射光を受光して、各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップ、計測された各回折格子面からの反射光の強度の、各流路に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定するステップ、測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を流路毎に反応領域と非反応領域のそれぞれについて選定し、流路毎に選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、各流路を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップを実行する。
- この場合、第 6 の分析方法と同様の利点の他、複数の検出種を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の検出種を同じ条件下で分析できるため、検出種の違いを明確に分析することができる。また、反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピッチに基づいて分析を行うため、反応によって生じる検出種の変化を各流路においてより正確に分析することができる。

この分析方法は、次のような構成を有する分析装置を用いることによ

り実施することができる。すなわち、この分析装置は、上記の第2のセンサチップを保持手段により保持し、保持手段により保持された状態のセンサチップに、試料導入手段により異なる複数の試料をセンサチップ上の複数の流路に割り当てて導入し、試料導入手段により各流路に試料

5 が導入された状態のセンサチップのセンサ面に向けて一定の入射角度で光照射手段により光を照射し、各回折格子面からの反射光を受光手段により受光し、受光した反射光の強度を計測手段によって計測するような装置構成を有している。そして、さらにこの分析装置は、受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、測定手段と分析手段とを備えている。測定手段は、計測装置により計測された各回折格子面からの反射光の強度の、上記各流路に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定する手段であり、分析手段は、測定した反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を流路毎に反応領域及び非反

10 応領域のそれぞれについて選定し、上記流路毎に選定した反応領域からの反射光の強度の変化量と選定した非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

さらに、上述の各分析方法において、表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離ステップを行ってもよい。

20

これにより、試料中に検出種以外の不純物が混入していたとしても、分析前に適正に除去することができ、純粋な検出種のみを分析することができる。したがって、正確な分析を行うことが可能となる。

25 また、これらの分析手段で通常用いられている検出方法（吸光度検出、蛍光検出、化学発光検出、示差屈折計検出、電気化学検出など）と組

み合わせることで、各種の存在物質の存在量と、その中での検出対象種の特異的反応計測による測定とを同時に行うことができる。

この分析方法は、上述の分析装置の構成に加え、表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離手段を有するように構成した分析装置を用いることで実施できる。

試料分離手段としては、液体クロマトグラフィー、HPLC、キャピラリー電気泳動、マイクロチップ電気泳動、マイクロチャネル或いはフローインジェクションの何れかの手法により試料を分離することが望ましい。

また、上述の各分析方法において、検出種が発光物質である場合に、センサ面に光を照射するに先立ち、或いは、センサ面に光を照射して反射光を受光した後、結合物質に結合した発光物質の発光光を検出するステップを備え、分析ステップでは、発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うようにしてもよい。

これにより、表面プラズモン共鳴のみでなく、発光現象を利用した分析を行えるようになる。蛍光や燐光等の発光現象は非常に高感度であるため、より微小な反応も検出することが可能となる。

この分析手段は、上述の分析装置の構成に加えて、検出種が発光物質である場合に、受光手段が結合物質に結合した発光物質の発光光も検出可能に構成され、分析手段が、受光手段による発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うように構成した分析装置を用いることで実施できる。

また、上記の第1、第2の表面プラズモン共鳴センサチップとは別に、以下のような構成の表面プラズモン共鳴センサチップによっても光の入射方向から見た回折格子の溝ピッチに分布をもたせることができる

。本発明の別の表面プラズモン共鳴センサチップ（第３のセンサチップ）は、光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起する金属層と、金属層の近傍に形成され、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子が一定の溝方向及び溝ピッチで形成された回折格子曲面とを
5 備え、回折格子曲面は光が照射される側に向けて凸の湖上の曲面形状を有し、所定の基準平面に垂直な特定平面に対し垂直に配置されるとともに、特定平面に垂直な溝方向で回折格子が形成されていることを特徴としている。

このような構成により、上記特定平面に平行に一定の方向から光（平行光）を照射したときには、照射光の照射位置における接平面の基準平面に対する傾斜角度に応じて、回折格子面への照射光の入射角度に分布が生じ、回折格子面の各位置から得られる反射光の強度にも分布が生じる。したがって、回折格子面の各位置から得られる反射光の強度とその位置における実質的な入射角度とに基づき、共鳴角度をリアルタイムで
10 算出することが可能になる。つまり、上記のような構成のセンサチップを用いることにより、角度スキャンや楔形の光の照射によることなく、所定の広がり角（或いは狭まり角）を有する光を照射する場合と同様の効果が得られる。

好ましくは、回折格子面の形状は、光が照射される側に向けて凸の曲面形状とする。これにより、回折格子面の各位置からの反射光が交錯することがなく、回折格子面の各位置からの反射光の強度の分析が容易になる。
20

また、上記の回折格子面を複数設けるのも好ましい。この場合は、特定平面に平行に一定の方向から光を照射するだけで複数の回折格子面における共鳴角度を同時に検出することができるので、各回折格子面に対応して結合物質を固定化することによって多点同時測定を容易に行うこ
25

とができる。

上記の第3のセンサチップにおいて、回折格子面は試料と接するセンサ面に沿って設けられている。そして、このセンサチップを試料の定量的及び／又は定性的な分析に用いる場合には、センサ面に試料中の検出
5 種と特異的に結合する結合物質を固定化したものを用いる。特に、多点同時測定用のセンサチップの場合には、各回折格子面に対応して結合物質を複数種固定化したものを用いることによって、同時に複数種の検出種について分析が可能になる。

次に、本発明の別の表面プラズモン共鳴センサチップ（第4のセンサ
10 チップ）は、光の照射により金属層の表面に誘起される表面プラズモン波と回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じうる共鳴領域をセンサ面に離散的に形成された複数の連続領域として構成し、これら複数の連続領域のうち少なくとも一つの連続領域を他の連続領域とは回折格子の溝ピッチ及び溝方向のうち少なくとも一つの要素
15 が相違したものにしている。なお、ここでいう連続領域とは、共鳴現象の有無の観点において平面的に連続しているセンサ面上の一連の領域を意味している。

このような構成により、特定の方向から見たときの回折格子の実質的な溝ピッチに分布が生じ、各連続領域では実質的な溝ピッチに応じた波
20 数と角振動数との関係を有するエバネッセント波が得られる。これにより、一つの表面プラズモン波に対して角振動数の異なる複数の共鳴ポイントにおいて共鳴現象が生じうることになる。

また、本発明の別の表面プラズモン共鳴センサチップ（第5のセンサ
チップ）は、光の照射により金属層の表面に誘起される表面プラズモン
25 波と回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じうる共鳴領域をセンサ面に連続的に形成され、この回折格子の溝方向は

一定で溝ピッチには連続的或いは不連続的な分布を持たせている。なお、ここでいう溝ピッチの連続的な分布とは、全ての隣接する溝間において溝ピッチが滑らかに変化していることを意味し、溝ピッチの不連続的な分布とは、少なくとも一つの隣接する溝間において溝ピッチがステップ状に変化していることを意味している。

このような構成により、連続領域上の各位置では溝ピッチに応じた波数と角振動数との関係を有するエバネッセント波が得られる。これにより、一の表面プラズモン波に対して角振動数の異なる複数の共鳴ポイントにおいて共鳴現象が生じることになる。

10 上記の第4、第5のセンサチップを試料の定量的及び／又は定性的な分析に用いる場合には、共鳴領域の表面に試料中の検出種（化学種、生化学種又は生物種等）と特異的に結合する結合物質（抗原抗体反応、相補的DNA結合、リセプター／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用によって検出種を捕捉できる物質）を固定化したものを用
15 いる。そして、以下の光照射ステップ、検出ステップ及び分析ステップからなる分析方法を用いて分析を行う。

光照射ステップは、センサ面に試料を接触させて、所定の方向から光を照射するステップである。また、検出ステップは、共鳴領域からの反射光を受光し、受光した共鳴領域からの反射光の強度に基づき、共鳴領
20 域での共鳴現象を検出するステップである。そして、分析ステップは、共鳴現象が検出された位置における光の入射方向から見た回折格子の実質的な溝ピッチに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップである。なお、これらの各ステップは、記載順に実行してもよく、同時に実行してもよい。特に、各ステップを同時に実行する場合には
25 、試料中の被分析物が上記結合物質に結合していく様子をリアルタイムでモニタすることができる。

上記の分析方法は、以下の構成を有する分析装置を用いることにより実施することができる。この分析装置は、上記の表面プラズモン共鳴センサチップをそのセンサ面に試料を接触させた状態で保持手段により保持し、保持手段により保持された状態の表面プラズモン共鳴センサチップの共鳴領域に向けて所定の方法から光照射手段により光を照射し、共鳴領域からの反射光を受光手段により受光するような装置構成を有している。

そして、この分析装置は、さらに受光手段により受光した反射光から試料を分析するための手段として、検出手段と分析手段とを備えている。検出手段は、共鳴領域からの反射光の強度に基づき共鳴領域での共鳴現象を検出する手段であり、分析手段は、共鳴現象が検出された位置における光の入射方向から見た回折格子の実質的な溝ピッチに基づき試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う手段である。

なお、上記の分析方法における分析ステップでは、共鳴現象が検出された位置における光の入射方向から見た回折格子の実質的な溝ピッチ、及び共鳴現象が検出された位置における反射光の強度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行ってもよい。この場合、分析装置では、共鳴現象が検出された位置における光の入射方向から見た回折格子の実質的な溝ピッチ、及び共鳴現象が検出された位置における反射光の強度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うように分析手段を構成すればよい。

また、上記の分析方法における光照射ステップでは、単一波長の光を一定の入射角度で照射してもよい。この場合、分析装置では、単一波長の光を一定の入射角度で照射するように光照射手段を構成すればよい。上記の表面プラズモン共鳴センサチップを用いれば、このような簡単な光学系によっても共鳴現象が生じる共鳴ポイントを検出することができ

る。なお、この場合は、連続的な溝ピッチの分布を有している表面プラズモン共鳴センサチップを用いるのが特に好ましい。

図面の簡単な説明

5 図 1 は、本発明の第 1 実施形態にかかるセンサチップの構成を示す模式的な斜視図である。

図 2 は、図 1 のセンサチップの要部の構成を示す模式的な斜視図である。

図 3 は、図 1 のセンサチップに結合物質を固定化した状態を示す模式的な斜視図である。

図 4 は、図 1 のセンサチップの製造方法の一例を示す模式的な斜視図であり、(a) ~ (c) の順に製造手順を示している。

図 5 は、本発明の第 1 実施形態にかかる分析装置の構成を示す模式的な模式図である。

15 図 6 は、本発明の第 2 実施形態にかかるセンサチップの要部の構成を示す模式的な斜視図である。

図 7 は、本発明の第 3 実施形態にかかるセンサチップの要部の構成を示す模式的な斜視図である。

図 8 は、本発明の第 4 実施形態にかかるセンサチップに結合物質及び非結合物質を固定化した状態を示す模式的な斜視図である。

図 9 は、本発明の第 5 実施形態にかかる分析装置の構成を示す模式的な模式図である。

図 10 は、本発明の第 7 実施形態にかかるセンサチップの要部の構成を示す模式的な斜視図である。

25 図 11 は、本発明の第 7, 第 10 実施形態にかかる分析装置の構成を示す模式的な模式図である。

図 1 2 は、本発明の第 8 実施形態にかかるセンサチップの構成を示す模式的な斜視図である。

図 1 3 は、本発明の第 9 実施形態にかかるセンサチップの構成を示す模式的な斜視図である。

5 図 1 4 は、本発明の第 1 0 実施形態にかかるセンサチップの構成を示す模式的な斜視図である。

図 1 5 は、本発明のセンサチップの第 1 1 実施形態を示す模式的な斜視図である。

10 図 1 6 は、図 1 5 のセンサチップに結合物質を固定化した状態を示す模式的な斜視図である。

図 1 7 は、図 1 5 のセンサチップの光学的特性を示す分散関係図である。

図 1 8 は、図 1 5 のセンサチップの製造方法の一例を示す模式的な斜視図であり、(a) ~ (c) の順に製造手順を示している。

15 図 1 9 は、図 1 5 のセンサチップの変形例を示す模式的な斜視図である。

図 2 0 は、本発明の分析装置の一実施形態を示す模式的な模式図である。

20 図 2 1 (a) は、本発明のセンサチップの第 1 2 実施形態を示す模式的な斜視図、図 2 1 (b) は本発明のセンサチップを説明するための概要図である。

図 2 2 は、本発明のセンサチップの第 1 3 実施形態を示す模式的な斜視図である。

25 図 2 3 は、本発明の分析装置の第 1 4 実施形態を示す模式的な模式図である。

図 2 4 は、本発明のセンサチップの第 1 5 実施形態を示す模式的な斜

視図である。

図 2 5 は、本発明の分析装置の第 1 5 実施形態を示す模式的な模式図である。

図 2 6 (a) , 図 2 6 (b) は、本発明のセンサチップの第 1 6 実施形態を説明する模式的な正面図である。

図 2 7 (a) , 図 2 7 (b) , 図 2 7 (c) は、本発明のセンサチップの第 1 6 実施形態を説明するための模式的な概要図である。

図 2 8 (a) , 図 2 8 (b) , 図 2 8 (c) は、本発明のセンサチップの第 1 7 実施形態を示す模式的な平面図である。

10 図 2 9 は、本発明のセンサチップの第 1 8 実施形態を示す模式的な斜視図である。

図 3 0 は、本発明のセンサチップの第 1 9 実施形態を示す模式的な斜視図である。

15 図 3 1 は、図 3 0 のセンサチップにおける溝ピッチの分布を示す図である。

図 3 2 は、図 3 0 のセンサチップの光学的特性を示す分散関係図である。

図 3 3 は、本発明のセンサチップの第 2 0 実施形態を示す平面図である。

20 図 3 4 は、図 1 のセンサチップにかかる回折格子面の配置形態の変形例を示す模式的な斜視図である。

図 3 5 は、図 1 のセンサチップにかかる回折格子面の配置形態の変形例を示す模式的な斜視図である。

25 図 3 6 は、図 1 のセンサチップにかかる回折格子面の配置形態の変形例を示す模式的な斜視図である。

図 3 7 は、図 1 9 に示すセンサチップの変形例を示す模式的な斜視図

である。

図 3 8 は、本発明のセンサチップの別実施形態を示す模式的な斜視図である。

図 3 9 は、本発明の第 1 実施例にかかるセンサチップの模式的な斜視図である。

図 4 0 は、本発明の第 1 実施例にかかるセンサチップの模式的な斜視図である。

図 4 1 は、本発明の第 1 実施例にかかる、入射光の入射角と反射光強度とを示すグラフである。

10 図 4 2 は、本発明の第 1 実施例にかかる、入射光の入射角と反射光強度とを示すグラフである。

図 4 3 は、本発明の第 3 実施例にかかる、エタノール水溶液のエタノール濃度と共鳴角のシフト量とを示すグラフである。

15 図 4 4 は、本発明の第 3 実施例にかかる、エタノール水溶液のエタノール濃度と共鳴角のシフト量とを示すグラフである。

図 4 5 は、本発明の第 4 実施例にかかる、エタノール水溶液のエタノール濃度と反射光強度とを示すグラフである。

図 4 6 は、本発明の第 4 実施例にかかる、エタノール水溶液のエタノール濃度と反射光強度とを示すグラフである。

20 図 4 7 は、本発明の第 5 実施例にかかるセンサチップの模式的な斜視図である。

図 4 8 は、実施例 1 の結果を示すグラフである。

図 4 9 は、実施例 1 の結果を示すグラフである。

図 5 0 (a), 図 5 0 (b) は実施例 2 の結果を示すグラフである。

25 図 5 1 は、従来のセンサチップの特性を示す分散関係図である。

図 5 2 (a) は従来の角度変化型の分析装置の光学系を示す模式図で

あり、図 5 2 (b) はセンサチップへの光の照射状態を拡大して示す図である。

発明を実施するための最良の形態

5 以下、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。

(A) 第 1 実施形態

まず、図 1 ～図 5 を用いて本発明の第 1 実施形態について説明する。

図 1 に示すように本実施形態にかかるセンサチップ（表面プラズモン
共鳴センサチップ） 1 は、その表面（センサ面） 1 a を金属層 3 により
10 被覆され、金属層 3 上の複数箇所に回折格子が形成された回折領域 6 が
部分的に設けられている。本実施形態では、回折格子が形成されている
各回折領域 6 が多点同時測定による分析時の測定スポットとなる。

図 2 は測定スポット 6 を拡大して示した斜視図である。図 2 に示すよ
うに測定スポット 6 は、回折格子が形成された複数の平面（以下、回折
15 格子面） 5 a ～ 5 i が集約して配置されたものである。各回折格子面 5
a ～ 5 i は、金属層 3 上の測定スポット 6 外の表面を基準平面 S 0 とし
たとき、この基準平面 S 0 に垂直な特定平面 S 1 に対して垂直で、且つ
基準平面 S 0 に対してそれぞれ所定の傾斜角度 $\alpha a \sim \alpha i$ をなして配置
されている。また、各回折格子面 5 a ～ 5 i には、同一形状（同一溝深
20 さ、溝ピッチ）の回折格子が特定平面 S 1 に垂直な溝方向に形成されて
いる。

ここでは、中央の回折格子面 5 e は基準平面 S 0 に平行に配置されて
おり、残りの回折格子面 5 a ～ 5 d, 5 f ～ 5 i は、中央から遠ざかる
ほど基準平面 S 0 に対する傾斜角度が次第に大きくなるように、言い換
25 えれば、特定平面に平行な一方向 A から見たときの基準平面 S 0 に対す
る傾斜角度が次第に小さくなるように配置されている（すなわち、 αa

$\alpha_b > \alpha_c > \alpha_d > \alpha_e$ ($\alpha_e = 0$) $> \alpha_f > \alpha_g > \alpha_h > \alpha_i$)。また、各回折格子面 5 a ~ 5 i は、隣り合う回折格子面同士が連続するように配置されている。

この構造によれば、光がセンサチップ 1 のセンサ面 1 a に照射されると、照射光はセンサ面 1 a 上の各測定スポット 6 において回折し、この回折現象によりエバネッセント波が生じる。このとき、測定スポット 6 への実質的な入射角度は回折格子面 5 a ~ 5 i 毎に異なり、図 2 において基準平面 S 0 に対する照射光の入射角度を θ としたとき、各回折格子面 5 a ~ 5 i への実際の入射角度は、照射方向側の端部にある回折格子面 5 a から順に、 $\theta - \alpha_a$, $\theta - \alpha_b$, $\theta - \alpha_c$, $\dots$, $\theta - \alpha_i$ となる。このように照射光の入射角度が回折格子面 5 a ~ 5 i 毎に異なることにより、回折現象により生じるエバネッセント波の波数も回折格子面 5 a ~ 5 i 毎に異なったものになり、照射光が金属層 3 に作用することにより金属層 3 の表面に発生する表面プラズモン波との共鳴 (SPR) の度合いも回折格子面 5 a ~ 5 i 毎に異なったものになる。

このセンサチップ 1 は、図 4 (a) に示す基体 2 の表面に、まず、図 4 (b) に示すようにレーザ加工等により凹凸形状が形成された凹凸面 4 を複数箇所部分的に形成し、次いで、図 4 (c) に示すように基体 2 の表面全面にスパッタリングや蒸着により金属層 3 を積層することで製造することができる。凹凸面 4 上に金属層 3 が積層されることで金属層 3 の表面にも凹凸面が現れ、この金属層 3 の表面に現れた凹凸面が回折格子面として機能し、凹凸面 4 が形成された各回折領域が測定スポット 6 となる。

基体 2 の材質は、表面に凹凸面 4 を形成することができ、金属層 3 を保持できる機械的強度が十分であるならばその材質に限定はない。凹凸面 4 の形成しやすさからは樹脂が好ましく、アクリル樹脂(ポリメタク

リル酸メチルなど)、ポリエステル樹脂(ポリカーボネートなど)、ポリオレフィンなどが好適な材質として挙げられる。

金属層 3 は、表面プラズモン波を誘起しうるものであればその材質に限定はない。例えば、金、銀、銅、アルミニウムやこれらを含む合金等、或いは銀、銅、アルミニウムの酸化物等を用いることができる。感度や安価な点では銀が好ましいが、安定性の面では金が好ましい。金属層 3 の厚みは、好ましくは 20 ~ 300 nm とし、より好ましくは 30 ~ 160 nm とする。なお、金属層 3 の厚みが小さい場合には、照射光が金属層 3 を透過して基体 2 の表面に達し、照射光が基体 2 表面の凹凸面 4 において回折する場合もある。この場合は凹凸面 4 の凹凸形状も回折格子として機能することになる。

基体 2 に形成する凹凸面 4 は、上述のレーザ加工の他、所定の凹凸形状を備えた金型をイオンビームを用いて形成し、この金型への射出成型によって基体 2 とともに成型することも可能である。また、凹凸形状を持たない傾斜角のある平面だけを先に基体 2 の表面に形成し、その後、その上から透過型凹凸フィルムを貼り付けることでも所望の凹凸面 4 を形成できる。その他、微細切削技術を用いて凹凸形状を加工したり、平面に対して PDMS (ポリジメチルシロキサン) をマイクロコンタクトプリンティングすることにより凹凸形状を形成したりすることでも所望の凹凸面 4 を形成することができる。

凹凸面 4 の凹凸形状は、金属層 3 を積層したときにその表面に所望の回折格子が得られるように金属層 3 の厚み等を考慮して形成する。凹凸形状としては、矩形波形状、正弦波形状、鋸歯状形状などがあり得るが、好ましくは回折格子の溝深さ(頂から谷底まで)が 10 ~ 200 nm (より好ましくは 30 ~ 120 nm)、ピッチ(周期: 凹凸の凸から隣接する凸までの距離)が 400 ~ 1200 nm (照射光の波長と関係する)

となるような周期的な凹凸形状とする。

一つの測定スポット6に形成する回折格子面の数は、2～100の範囲、より好ましくは5～50の範囲とする。回折格子面の基準平面に対する傾斜角度は、-10度～10度の範囲、好ましくは-5度～5度の
5 範囲、より好ましくは-3度～3度の範囲とする。また、隣接する回折格子面間における傾斜角度の変化量は0.001～1度の範囲、好ましくは0.01～0.5度の範囲とする。

また、回折格子面の大きさは、測定スポット6の数にもよるが、形状が矩形の場合には短辺が5 μ m～20mmの範囲、好ましくは20 μ m
10 ～5mmの範囲とし、形状が円形の場合には直径が5 μ m～20mmの範囲、好ましくは20 μ m～5mmの範囲とする。そして、測定スポット6の形成密度としては、0.1～1,000,000個/cm²が好ましく、1～100,000個/cm²がより好ましい。これにより、1チップあたり、1～10,000,000個の測定スポット6において多
15 点同時測定が可能になる。

次に、本実施形態にかかるセンサチップ1の使用方法について説明する。

センサチップ1を試料の分析に用いる際には、まず、図3に示すように各測定スポット6上に結合物質7を固定化する。この結合物質7は、
20 抗原抗体反応、相補的DNA結合、リセプター／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用によって特定の物質と特異的に結合する性質を備えた結合物質であり、検出すべき検出種（化学種、生化学種又は生物種等）に応じた結合物質7が選択される。試料中に複数の検出種が含まれる場合には、各検出種に応じた結合物質7がそれぞれ選択さ
25 れて、それぞれ別々の測定スポット6に固定化される。

そして、このように結合物質7が固定化されたセンサチップ1を図5

に示す構成の分析装置 10 にセットして分析を行う。この分析装置 10 はセンサチップ 1 を固定するためのホルダ 11, 光源 12, 光検出器 13 及び分析部 14 から主に構成されている。

ホルダ 11 には検出種を含む試料流体が通過する流路 11a が形成されている。センサチップ 1 はそのセンサ面 1a が流路 11a を流れる試料に接するように配置されて固定される。

光源 12 はセンサチップ 1 のセンサ面 1a に向けて光を照射するようにセンサチップ 1 に対して流路 11a を挟んで配置されている。光源 12 の照射方向は、特定平面 S1 に平行で、且つ、基準平面 S0 に対して所定の入射角度 θ をなすように設定されている。なお、この入射角度 θ は、各回折格子面 5a ~ 5i からの反射光の強度のうち、最小入射角の回折格子面 5a からの反射光の強度が最小となるように調整しておくのが好ましい。光源 12 としては単色光を発するレーザ光源、特に価格、大きさの点で半導体レーザが好ましく、波長は 350 ~ 1300 nm 程度とするのが好ましい。また、ハロゲン・タングステンランプなどの白色光を干渉フィルターや分光器等で分光して得た単色光を光源として用いることも可能である。

光検出器 13 はセンサチップ 1 からの反射光を検出する検出器であり、光源 12 と同様にセンサチップ 1 に対して流路 11a を挟んで配置されている。光検出器 13 としては、例えば CCD 素子を集積したもの、シリコンフォトダイオードアレイ等が好ましい。なお、図中では省略しているが、P 偏光のみが表面プラズモン波を共鳴させることができるため、光源 12 とセンサチップ 1 との間、またはセンサチップ 1 と光検出器 13 との間には、光源 12 からの照射光、或いはセンサチップ 1 からの反射光を偏光するための偏光子が設置されている。

分析部 14 は光検出器 13 からの検出情報に基づき分析処理を行う装

置である。分析部 1 4 は、本発明にかかる算出手段或いは測定手段、及び分析手段として機能する。以下、分析部 1 4 の各機能とあわせて、本実施形態にかかるセンサチップ 1 を用いた試料の分析手順について、共鳴角度を算出して共鳴角度に基づき試料の分析を行う場合と、反射光の強度の変化量を測定して反射光強度の変化量に基づき試料の分析を行う場合とに分けて具体的に説明する。

共鳴角度に基づき試料の分析を行う場合、まず、センサチップ 1 をホルダ 1 1 にセットしてセンサチップ 1 のセンサ面 1 a を試料に接触させる（ステップ A 1）。これによりセンサ面 1 a の各測定スポット 6 に固定された結合物質 7 に試料流体中の検出種が特異的に結合する。そして、結合物質 7 に結合した検出種の物質質量に応じて各測定スポット 6 の金属層 3 表面近傍の媒質の屈折率が変化し、各測定スポット 6 における表面プラズモン波の共鳴条件が変化する。

次に、光源 1 2 からセンサ面 1 a に向けて照射光を照射する（ステップ A 2）。このとき、照射光が全ての測定スポット 6 を照らすように照射光の太さを調整する。センサ面 1 a に照射された照射光は各測定スポット 6 に配置された各回折格子面 5 a ～ 5 i において回折光を生じさせる。このうち 0 次の回折光（反射光）を光検出器 1 3 によって検出し、検出した反射光の強度を計測する（ステップ A 3）。したがって、光検出器は受光手段としての役割と計測手段としての役割を果たす。

光検出器 1 3 により検出された反射光の情報は分析部 1 4 に送られる。分析部 1 4 は、光検出器 1 3 からの反射光の情報から結合物質 7 が固定された各測定スポット 6 からの反射光の強度の情報を抽出して、各測定スポット 6 の回折格子面 5 a ～ 5 i 毎に反射光の強度を検出する。そして、各回折格子面 5 a ～ 5 i からの反射光の強度に基づき、測定スポット 6 毎に共鳴角度を算出する。具体的には、測定スポット 6 毎に反射

光の強度が最小となる回折格子面を検出し、その回折格子面への実際の入射角度（基準平面 S 0 への入射角度から傾斜角度を差し引いた角度）を共鳴角度と見なすか、或いは、反射光強度が最小の回折格子面の近傍にある複数の回折格子面の実際の入射角度と、これら回折格子面で得られる反射光強度とに基づき、反射光強度が極小となる共鳴角度を補間計算する。この場合、補間計算の方がより正確に共鳴角度を算出することができる（ステップ A 4 - 1）。

そして、分析部 1 4 は、照射した光の波長と算出した共鳴角度とを検量線（或いは理論的な濃度換算式）に照合して、各測定スポット 6 に対応する検出種の濃度を分析する。検量線は、濃度既知の試料を用いた試験により各検出種の濃度と共鳴波長及び共鳴角度との関係を予め求めたものであり、算出した各測定スポット 6 における共鳴角度をこの検量線に照合することで試料流体中の各検出種の濃度を測定できる（ステップ A 5 - 1）。

このような手法により分析を行うことで、各測定スポット 6 における共鳴角度を同時に且つリアルタイムで算出することができ、多種の検出種についてのリアルタイム分析が可能になる。

なお、媒質の屈折率変化が非常に大きく（例えば酵素反応により生じるものが表面に沈着する性質を持つ色素のような場合や、結合反応の増感法として金コロイドなどの微粒子を使用する場合など）、回折格子面 5 a ~ 5 i の角度だけでは共鳴角度のシフトに対応できないときは、入射光の角度を変更することによって対応することができる。

一方、反射光強度の変化量に基づき試料の分析を行う場合は、上述のステップ A 1 からステップ A 3 までの処理によりセンサ面 1 a からの反射光を検出すると、分析部 1 4 は、得られた反射光の情報から各測定スポット 6 からの反射光の情報を抽出して、各測定 6 スポットの回折格子

面 5 a ~ 5 i 毎に反射光の強度を検出する。そして、センサ面 1 a に試料が接触していない状態に対する反射光強度の変化量を回折格子面 5 a ~ 5 i 毎に測定する（ステップ A 4 - 2）。

- 次に、分析部 1 4 は、反射光強度の変化量が所定の測定レンジ（測定
5 許容範囲）内にある、すなわちレンジオーバーしていない回折格子面を測定スポット 6 毎に選定する。そして、選定したレンジオーバーしていない回折格子面からの反射光強度の変化量とその回折格子面の傾斜角度とを検量線（濃度既知の試料を用いた試験により回折格子面への入射角度と反射光強度の変化量との関係を予め求めたもの）に照合して、各ス
10 ポット 6 に対応する検出種の濃度を分析する（ステップ A 5 - 2）。

- エバネッセント波の波数は回折格子面への照射光の入射角度に変化することから、反射光強度の変化量も入射角度により変化し、入射角度如何によっては変化量が大きくなりすぎて分析部 1 4 に含まれる測定器の測定レンジを越えてしまう場合がある。この場合、従来は、光学系の再
15 調整により入射角度を変更する必要があった。特に多項目測定を行う場合において、検出種間の濃度差が大きい場合には、測定しようとする検出種毎に入射角度を変更しなければならなかった。しかしながら、本実施形態のセンサチップ 1 には、傾斜角度が異なる複数の回折格子面 5 a ~ 5 i が設けられているので、照射光の入射角度を変更せずとも別の回
20 折格子面を選定することで実質的に入射角を変更したことになる。つまり、実質的に計測レンジを拡大したことに相当する。その結果、広い計測レンジが必要となる濃度域の広い試料についても対応することが可能となる。

- 以上のように、本実施形態のセンサチップ 1 を用いて試料の分析を行
25 うことにより、多種の検出種についてのリアルタイム分析が可能になるとともに、濃度域の広い試料についても対応することができるという利

点がある。

また、このセンサチップ 1 を用いた分析装置 10 には、角度スキャンのための駆動機構を必要とせず、光源（偏光子を含む）12 とセンサチップ 1 と光検出器 13 だけで光学系が構成できるので、装置の簡素化、

5 小型化及び低コスト化が可能になるという利点もある。

近年、特に臨床検査の分野では治療の現場での検査を可能にする小型・簡便操作を特徴とする POC が重視されており、表面プラズモン共鳴センサチップも免疫検査などに適用が考えられていたが、サイズとコストの点において従来は POC への展開は困難であった。しかしながら、
10 この分析装置 10 によれば、サイズもコストも抑えることができるので POC に適用可能なだけでなく、在宅検査などの領域にも適用することができる。さらには、この分析装置 10 は、HPLC にも好適であり、血液や尿の分析や食品中の栄養分の分析、或いは排水中の化学物質の分析等にも応用することができる。

15 (B) 第 2 実施形態

次に、図 6 を用いて本発明の第 2 実施形態について説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ 21 は、その基本構成は第 1 実施形態と共通しており、表面を金属層 23 により被覆され、金属層 23 上の複数箇所に回折格子が形成された回折領域（測定スポット）26 が部分
20 的に設けられている。

ここでは、測定スポット 26 は、回折格子が形成された曲面（以下、回折格子面）25 からなり、この回折格子面 25 は、金属層 3 上の測定スポット 26 外の表面を基準平面 S0 としたとき、この基準平面 S0 に垂直な特定平面 S1 に対して垂直に配置されている。また、回折格子面
25 25 は、センサ面 21 a 側に凸の弧状に形成されており、特定平面 S1 に垂直な溝方向に回折格子が形成されている。

この構造によれば、測定スポット 26 への実質的な入射角度は回折格子面 25 上の位置により異なり、図 6 において基準平面 S0 に対する照射光の入射角度を θ としたとき、回折格子面 25 上の各位置への実際の入射角度は、その位置における接平面の基準平面 S0 に対する傾斜角度を β とすると、 $\theta - \beta$ となる。回折格子面 25 に接する接平面の傾斜角度は、図 6 に示すように $\beta 1$ ($\beta 1 > 0$) から $\beta 2$ ($\beta 2 < 0$) まで連続的に変化することから、回折格子面 25 への照射光の実質的な入射角度には $\theta - \beta 1$ から $\theta - \beta 2$ までの連続的な分布が生じることになり、その結果、回折格子面 25 の各位置から得られる反射光の強度にも連続的な分布が生じることになる。

このような特性により、本実施形態のセンサチップ 21 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 実施形態と同様の利点が得られるだけでなく、回折格子面 25 への照射光の実質的な入射角度が連続的に分布することから、近似や補間計算によることなく共鳴角度を直接検出することができ、より正確な分析が可能になるという利点もある。

(C) 第 3 実施形態

次に、図 7 を用いて本発明の第 3 実施形態を説明する。

本実施形態に係るセンサチップ 31 は、その基本構成は第 1 実施形態と共通しており、表面を金属層 33 により被膜され、金属層 33 上の複数箇所に回折格子が形成された回折領域（測定スポット）36 が部分的に設けられている。

ここでは、測定スポット 36 は一部に回折格子を形成された回折格子面 35a ~ 35i からなり、この回折格子面 35a ~ 35i の一部には回折格子が形成されていない領域（以下、非回折面という）37a ~ 37i が形成されている。その他の構成は、第 1 実施形態と同一である。

この構造によれば、測定スポット 36 の反射光は、回折格子面 35a

～ 3 5 i で反射して表面プラズモン共鳴により強度を弱められた反射光（以下、共鳴反射光という）と、非回折面 3 7 a ～ 3 7 i で反射し、表面プラズモン共鳴の影響を受けていない反射光（以下、基準反射光という）とに別けられる。

- 5 このような特性により、本実施形態のセンサチップ 3 1 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 実施形態と同様の手法に加え、計測される共鳴反射光の強度を、共鳴反射光が反射した回折格子面と同じ回折格子面にある非回折面で反射した基準反射光の強度で補正するステップを備えることができる。これにより、第 1 実施形態と同様の利点に加えて、
- 10 基準反射光の強度による補正によって、各回折格子面間の表面特性による誤差の影響を補正することができ、より正確な分析を行うことが可能となるという利点がある。

（D）第 4 実施形態

次に、図 8 を用いて本発明の第 4 実施形態を説明する。

- 15 本実施形態に係るセンサチップ 4 1 は、その基本構成は第 1 実施形態と共通しており、表面を金属層 4 3 により被膜され、金属層 4 3 上の複数箇所に回折格子が形成された回折領域（測定スポット） 4 6 が部分的に設けられている。

- 20 ここでは、測定スポット 4 6 上に、結合物質 4 7 の他に非結合物質 4 8 を固定化する。非結合物質 4 8 は、検出すべき検出種と特異的に結合しうる性質を備えない物質である。試料中に複数の検出種が含まれる場合には、各検出種に応じた結合物質 4 7 及び非結合物質 4 8 がそれぞれ選択されて、それぞれ別々の測定スポット 4 6 に固定化してもよい。

- 25 したがって、結合物質が固定化された領域は反応領域となり、非結合物質が固定化された領域及び結合物質と非結合物質とが共に固定化されていない領域は非反応領域となる。また、金属層 4 3 を形成する金属と

検出種とが特異的に結合しない場合には、非結合物質 4 8 を固定化せずに、結合物質 4 7 及び非結合物質 4 8 が共に固定化されず金属層 4 3 が剥き出しとなっている領域を非反応領域としても良い。

その他の構成は、第 1 実施形態と同一である。

- 5 この構造によれば、測定スポット 4 6 から反射される反射光は、反応領域で反射される反射光と非反応領域で反射される反射光とに別けられる。反応領域で反射される反射光は試料の定量的及び／又は定性的な要素によって変化するが、非反応領域で反射される反射光は試料の影響を受けず回折格子面の構造によってのみ強度が決定される。
- 10 このような特性により、本実施形態のセンサチップ 4 1 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 実施形態と同様の手法に加え、反応領域及び非反応領域のそれぞれにおいて表面プラズモン共鳴が発生する共鳴角度を算出するステップと、さらに、反応領域における共鳴角度から反応領域と同じ回折格子面上の非反応領域における共鳴角度を差し引いた共
- 15 鳴角度を算出するステップとを行う。これにより、検出種が反応領域で結合物質と結合した時の反射光を、反応領域近傍の非反応領域で反射した反射光を基準として分析することができるため、第 1 実施形態と同様の利点に加えて、検出種が結合物質と特異的に結合することにより生じる変化を確実に分析することができる。

20 (E) 第 5 実施形態

次に、図 9 を用いて本発明の第 5 実施形態を説明する。

本実施形態は、第 1 実施形態の分析装置 1 0 の、試料流体が流れる流路 1 1 a の上流に、試料流体を分離する分離装置 5 9 が設置された構造となっている。

- 25 分離装置 5 9 としては、試料の吸着性や分配係数に応じて分離を行う液体クロマトグラフィーや H P L C (high performance liquid

chromatography) , 試料の電気陰性度に応じて分離を行うキャピラリー
一電気泳動やマイクロチップ電気泳動, フローインジェクション或いは
マイクロチャネルを用いた分離方法などが好適である。

5 マイクロチャネルは何らかのチップ表面に形成された試料が流れる溝
のことであるが、この溝の一部にHPLCのカラム充填材に相当するも
のを詰めたり、溝表面に官能基を備えさせたりすることで、分離が可能
となるものである。

また、フローインジェクションは試料が流れている状態で様々な反応
を起こさせる手法であるが、例えば錯形成反応と溶媒抽出とを行い、試
10 料中の検出種以外の物質を除去する等の処理をして、分離を行うことが
できる。

なお、もちろん上記以外の装置を分離装置として分析装置に取り付け
ても良い。

この装置を用いて分析を行う場合、酵素やたんぱく質等の検出種を予
15 め分離装置によって純粋な物質ごとに分離することができる。このため
、純粋な物質となった検出種を分析することができ、より正確な分析を
行うことができる。

また、分析手段として通常用いられている検出方法（吸光度検出、蛍
光検出、化学発光検出、示差屈折計検出、電気化学検出など）と組み合
20 わせることにより、各種の存在物質の存在量と、その中での検出対象種
の特異的反応計測による測定とを同時に行うことができる。

(F) 第6実施形態

次に、図5を用いて本発明の第6実施形態を説明する。

本実施形態は、第1実施形態と基本的な構成は共通しており、光源1
25 2から照射された光はセンサチップで反射し、光検出部13で検出され
るよう構成されている。

ここでは、検出種は蛍光や燐光などの光を発生しうる発光物質である。
例えば、結合物質と反応することや、光源 12 から供給される光によ
って励起されることにより発光する発光物質がある。本実施形態では光
検出部 13 がこの発光した光（発光光）を検出できるように構成されて
5 いる。

このような構成により、実施形態 1 の利点に加え、本実施形態は発光
光の検出結果を用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うこと
ができ、したがってより正確な分析を行うことができる。特に蛍光など
の化学発光は非常に高感度であるため、微小な反応を検出することが可
10 能である。

（G）第 7 実施形態

次に、図 10，11 を用いて本発明の第 7 実施形態を説明する。

本実施形態は、第 1 実施形態と基本的な構成は共通しており、光源 1
2 から照射された光はセンサチップ 71 で反射し、光検出部 13 で検出
15 されるよう構成されている。

ここでは、図 10 に示すように、試料が流れる流路 70 が回折格子と
しての凹凸と直交する向きに複数設けられている。流路 70 はセンサチ
ップ 71 表面を覆う蓋 72 とセンサチップ 71 との間に設けられ、2 本
1 組でセンサチップ 71 上の各測定スポット 6 を通過するよう形成され
20 ている。なお、流路 70 と流路 70 との間には、試料が混ざらないよう
にシールが施されている。

また、図 11 に示すように、分析装置 10 の流路 70 の上流に、異な
る試料流体それぞれを各流路 70 に割り当てて、割り当てた試料流体を
各流路に導入する試料導入装置 79 が設置されている。

25 この様な構成により、本実施形態では、第 1 実施形態と同様の手法に
加え、異なる複数の試料を複数の流路 70 に割り当て、各流路 70 に割

り当てられた試料を流しながらセンサ面に光を照射するステップを備えることができる。

このため、第 1 実施形態の利点に加え、本実施形態は複数の試料を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の試料を同じ条件下で分析できるため、試料の違いを明確に分析することができる。

(H) 第 8 実施形態

次に、図 1 2 を用いて本発明の第 8 実施形態について説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ 8 1 は、その基本構成は第 1 実施形態と共通しており、表面を金属層 8 3 により被覆され、金属層 8 3 上の複数箇所に回折格子が形成された回折領域（測定スポット）8 7 が部分的に設けられている。

ここでは、測定スポット 8 7 の隣に、測定スポット 8 7 の表面の回折格子が形成された面が基準平面 S 0 に対する傾斜角度の分布と同一の、基準平面 S 0 に対する傾斜角度の分布を有する、回折格子が形成されていない平面（以下、非回折面という）を形成された非回折領域 8 8 が設けられている。その他の構成は、第 1 実施形態と同一である。

この構造によれば、センサチップ 8 1 の反射光は、測定スポット 8 7 で反射して表面プラズモン共鳴により強度を弱められた共鳴反射光と、非回折領域 8 8 で反射し、表面プラズモン共鳴の影響を受けていない基準反射光とに別けられる。

このような特性により、本実施形態のセンサチップ 8 1 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 実施形態と同様の手法に加え、計測される共鳴反射光の強度を、共鳴反射光が反射した測定スポットに対応する非回折領域で反射した基準反射光の強度で補正するステップを備えることができる。これにより、第 1 実施形態と同様の利点に加えて、基準反射

光の強度による補正によって、各測定スポットの表面に設けられた回折格子面間の表面特性による誤差の影響を補正することができ、より正確な分析を行うことが可能となるという利点がある。

(I) 第9実施形態

5 次に、図13を用いて本発明の第9実施形態について説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ91は、その基本構成は第1実施形態と共通しており、表面を金属層93により被覆され、金属層93上の複数箇所に回折格子が形成された回折領域（測定スポット）96が部分的に設けられている。

10 ここでは、測定スポット96のうちの一部の表面に、結合物質97を固定化し、他の測定スポット96の表面に、非結合物質98を固定化する。非結合物質98は、検出すべき検出種と特異的に結合しうる性質を備えない物質である。試料中に複数の検出種が含まれる場合には、各検出種に応じた結合物質97及び非結合物質98がそれぞれ選択されて、
15 それぞれ別々の測定スポット96に固定化してもよい。

したがって、結合物質が固定化された測定スポット表面の結合物質が固定化された領域は反応領域となり、非結合物質が固定化された測定スポット表面の非結合物質が固定化された領域及び結合物質と非結合物質とが共に固定化されていない領域は非反応領域となる。

20 また、金属層93を形成する金属と検出種とが特異的に結合しない場合には、非結合物質98を固定化せずに、結合物質97及び非結合物質98が共に固定化されず金属層93が剥き出しとなっている領域を非反応領域としても良い。

この他の構成は、第1実施形態と同一である。

25 この構造によれば、測定スポット96から反射される反射光は、反応領域で反射される反射光と非反応領域で反射される反射光とに別けられ

る。反応領域で反射される反射光は試料の定量的及び／又は定性的な要素によって変化するが、非反応領域で反射される反射光は試料の影響を受けず回折格子面の構造によってのみ強度が決定される。

このような特性により、本実施形態のセンサチップ 9 1 を用いて試料
5 の分析を行う場合には、第 1 実施形態と同様の手法に加え、反応領域及び非反応領域のそれぞれにおいて表面プラズモン共鳴が発生する共鳴角度を算出するステップと、さらに、反応領域における共鳴角度から反応領域と同じ回折格子面上の非反応領域における共鳴角度を差し引いた共鳴角度を算出するステップとを行う。これにより、検出種が反応領域で
10 結合物質と結合した時の反射光を、反応領域近傍の非反応領域で反射した反射光を基準として分析することができるため、第 1 実施形態と同様の利点に加えて、検出種が結合物質と特異的に結合することにより生じる変化を確実に分析することができる。

(J) 第 1 0 実施形態

15 次に、図 1 1 , 1 4 を用いて本発明の第 1 0 実施形態を説明する。

本実施形態は、第 1 実施形態と基本的な構成は共通しており、光源 1 2 から照射された光はセンサチップ 1 0 1 で反射し、光検出部 1 3 で検出されるよう構成されている。

ここでは、図 1 4 に示すように、センサチップ 1 0 1 表面に試料が流
20 れる流路 1 0 0 が並列に複数設けられている。流路 1 0 0 はセンサチップ 1 0 1 表面を覆う蓋 1 0 2 とセンサチップ 1 0 1 との間に設けられている。なお、流路 1 0 0 と流路 1 0 0 との間には、試料が混ざらないようにシールが施されている。

また、各流路 1 0 0 には第 1 実施形態と同様の測定スポット 6 が複数
25 設けられている。

また、図 1 1 に示すように、分析装置 1 0 の流路 1 0 0 の上流に、異

なる試料流体それぞれを各流路 1 0 0 に割り当てて、割り当てた試料流体を各流路に導入する試料導入装置 7 9 が設置されている。

この様な構成により、本実施形態では、第 1 実施形態と同様の手法に加え、異なる複数の試料を複数の流路 1 0 0 に割り当て、各流路 1 0 0
5 に割り当てられた試料を流しながらセンサ面に光を照射するステップを備えることができる。

このため、第 1 実施形態の利点に加え、本実施形態は複数の試料を同時に分析することができるため作業が効率的に行える。また、複数の試料を同じ条件下で分析できるため、試料の違いを明確に分析することが
10 できる。

また、本実施形態と第 4 実施形態とを組み合わせたり、本実施形態と第 9 実施形態とを組み合わせたりすることができる。これにより、同一流路上の各回折格子面にそれぞれ反応領域と非反応領域とを形成することが可能となり、非反応領域からの反射光による補正を各流路を流れる
15 試料ごとに行うことができる。

(K) 第 1 1 実施形態

まず、図 1 5 を用いて本発明の第 1 1 実施形態にかかるセンサチップ（表面プラズモン共鳴センサチップ） 2 0 1 の構成について説明する。
図 1 5 に示すように本実施形態にかかるセンサチップ 2 0 1 は、その表面（センサ面） 2 0 1 a を金属層 2 0 3 により被覆され、金属層 2 0 3
20 上には回折格子 2 0 5 が形成されている。本実施形態では、回折格子 2 0 5 は均一な溝ピッチではなく、不連続な溝ピッチの分布を持って形成されている。具体的には、回折格子 5 は溝に垂直な方向に連続する 4 つの領域 2 5 1, 2 5 2, 2 5 3, 2 5 4 毎に溝ピッチが異なっており、
25 領域 2 5 1 から領域 2 5 4 にかけて順に溝ピッチを大きく形成されている（すなわち、 $d_1 < d_2 < d_3 < d_4$ ）。なお、これら各領域 2 5 1

， 2 5 2 ， 2 5 3 ， 2 5 4 は、それぞれ本発明にかかる回折格子面に相当する。

この構造によれば、照射光がセンサチップ 2 0 1 のセンサ面 2 0 1 a に照射されると、照射光はセンサ面 2 0 1 a 上の回折格子 2 0 5 において回折し、この回折現象によりエバネッセント波が生じる。また、照射光が金属層 2 0 3 に作用することにより金属層 2 0 3 の表面に表面プラズモン波が発生する。そして、特定の波長及び入射角の光が照射されたときにエバネッセント波と表面プラズモン波とが共鳴し、表面プラズモン共鳴（S P R）が起きる。すなわち、このセンサチップ 2 0 1 では、
10 金属層 2 0 3 上の回折格子 2 0 5 が形成されている領域（連続領域）が共鳴領域となっている。

センサチップ 2 0 1 の使用時（試料の分析に用いる際）には、図 1 6 に示すように回折格子 2 0 5 が形成された共鳴領域上に結合物質 2 0 6 ， 2 0 7 が固定化されて、試料中の検出種（化学種，生化学種又は生物種等）と反応する反応領域となる。結合物質 2 0 6 ， 2 0 7 は、抗原抗体反応、相補的 D N A 結合、リセプター／リガンド相互作用、酵素／基質相互作用等の相互作用によって特定の物質と特異的に結合しうる性質を備えた物質であり、検出すべき検出種に応じた結合物質 2 0 6 ， 2 0 7 が選択される。ここでは、異なる検出種に対応する結合物質 2 0 6 ，
20 2 0 7 をそれぞれ各領域 2 5 1 ～ 2 5 4 に固定化している。

また、センサチップ上に形成される回折格子の溝ピッチの範囲は 2 0 0 n m ～ 2 0 0 0 n m 、好ましくは 5 0 0 n m から 9 0 0 n m である。また、溝深さは 1 0 n m ～ 1 0 0 n m が好ましい。さらに、1 つのセンサチップ上には 1 ～ 2 0 0 種類、好ましくは 2 ～ 2 0 種類の溝ピッチを
25 形成する

ところで、光の照射により金属層 2 0 3 に誘起される表面プラズモン

波は、その波数を k_{sp} [$k_{sp} = 2\pi/\lambda_{sp}$ (波長)] とすると、次の式 (数 1) で表される。

$$k_{sp}(\omega) = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m(\omega)n_1(\omega)^2}{\epsilon_m(\omega) + n_1(\omega)^2}}$$

また、回折格子 205 の作用により生じるエバネッセント波は、その波数を k_{ev} [$k_{ev} = 2\pi/\lambda_{ev}$ (波長)] とすると、次の式 (数 2) で表される。

$$k_{ev}(\omega) = \frac{\omega}{c} \sin \theta + mk_g$$

なお、数 1 或いは数 2 において、 ω は照射光の角振動数、 θ は照射光の入射角、 k_g は回折格子 205 の格子定数、 m は回折格子 205 による回折光の回折次数、 $\epsilon_m(\omega)$ は金属層 203 の誘電率、 $n_1(\omega)$ は金属層 203 の表面に接する媒質の屈折率、 c は光速を示している。

上記の数 1, 数 2 の関係を同一のグラフ上に表したものが図 17 に示す分散関係図である。図 17 中、曲線 A1, A2 は表面プラズモン波の角振動数 ω と波数 k との関係を示している。数 1 から明らかなように表面プラズモン波は金属層 203 の表面の媒質の屈折率に依存していることから、媒質の屈折率が大きくなると表面プラズモン波の角振動数 ω と波数 k との関係を示す曲線も変化する。具体的には、図 16 に示すように金属層 203 の表面に結合物質 206, 207 がスポット状に固定化され、これら結合物質 206, 207 にそれぞれ対応する検出種が結合したときには、各スポットにおける屈折率は結合した検出種の屈折率や結合量に応じて変化する。ここでは、結合物質 206 が固定化されたスポットの屈折率のほうが結合物質 207 が固定化されたスポットの屈折率よりも大きく、曲線 A1 は結合物質 206 が固定化されたスポットに対応し、曲線 A2 は結合物質 207 が固定化されたスポットに対応し

ている。

一方、図 1 7 中、直線 B 0 は照射光の角振動数 ω と波数 k との関係を示し、直線 B 1 ~ B 4 はエバネッセント波の角振動数 ω と波数 k との関係を示している。数 2 から明らかなようにエバネッセント波の角振動数 ω と波数 k との関係は格子定数 k_g により変化するが、この格子定数 k_g は光の入射方向から見たときの回折格子 2 0 5 の実質的な溝ピッチにより決まり、この実質的な溝ピッチが狭いほど格子定数 k_g は大きくなる。ここでは直線 B 1 は溝ピッチが最も狭い領域 2 5 1 で得られるエバネッセント波に対応し、以下、直線 B 2 は領域 2 5 2 に、直線 B 3 は領域 2 5 3 に、直線 B 4 は領域 2 5 4 に対応している。上記の曲線 A 1, A 2 とこれら直線 B 1 ~ B 4 との各交点 P 1 1, P 1 2, P 2 1, P 2 2, P 3 1, P 3 2, P 4 1, P 4 2 が表面プラズモン共鳴が起きる共鳴ポイントを示している。

試料中の検出種の濃度は、対応する結合物質 2 0 6, 2 0 7 が固定化されたスポットにおける共鳴現象を検出することによって分析することができる。ところが、計測器の計測レンジ（計測波長領域）に制約がある場合には共鳴現象の全てを検出できるわけではない。例えば、計測レンジが ω_1 から ω_2 までの角振動数の範囲に制約されている場合、回折格子 2 0 5 の溝ピッチが狭い領域 2 5 1 ~ 2 5 3 では、共鳴ポイント P 1 2, P 2 2, P 3 2 が計測レンジ外になるため、結合物質 2 0 7 が固定化されたスポットにおける共鳴現象は検出できない。しかしながら、より広い溝ピッチ d_4 を有する領域 2 5 4 では、共鳴ポイント P 4 2 が計測レンジ内に入るため、結合物質 2 0 7 が固定化されたスポットにおける共鳴現象を検出することができる。同様に、結合物質 2 0 6 が固定化されたスポットにおける共鳴現象については、領域 2 5 3, 2 5 4 ではその共鳴ポイント P 3 1, P 4 1 が計測レンジ外になるために検出で

きないものの、領域 2 5 1, 2 5 2 では共鳴ポイント P 1 1, P 2 1 が計測レンジ内に入るために計測可能である。

このように上記のセンサチップ 2 0 1 によれば、回折格子 2 0 5 の溝ピッチが領域 2 5 1 ~ 2 5 4 毎に異なることによって、各領域 2 5 1 ~ 2 5 4 において共鳴現象が生じる共鳴ポイントが表面プラズモン波の分散曲線に沿って分布するので、計測レンジに制約がある場合でも高い確率で何れかの領域 2 5 1 ~ 2 5 4 において共鳴現象を検出することができる。そして、上述のように複数種の結合物質 2 0 6, 2 0 7 を固定化して屈折率が異なる複数の検出種の分析を行う場合にも、限られた計測レンジの中で光学系の再調整を行うことなく一度に分析を行うことができる。すなわち、広範囲の屈折率分布を有する試料の分析にも対応可能である。

なお、上記のセンサチップ 2 0 1 は、以下のような方法により製造することができる。まず、図 1 8 (a) に示す基体 2 0 2 の表面に、図 1 8 (b) に示すようにレーザ加工等により凹凸形状 (グレーティング) 2 0 4 を形成する。次いで、図 1 8 (c) に示すように基体 2 0 2 の表面全面にスパッタリングや蒸着により金属層 2 0 3 を積層する。凹凸形状 2 0 4 上に金属層 2 0 3 が積層されることで金属層 2 0 3 の表面にも凹凸形状が現れ、この金属層 2 0 3 の表面の凹凸形状が回折格子 2 0 5 として機能する。

基体 2 0 2 の材質は、表面に凹凸形状 2 0 4 を形成することができ、金属層 2 0 3 を保持できる機械的強度が十分であるならばその材質に限定はない。例えば無機材料としてガラス、石英、シリコン等が挙げられ、有機材料としてはポリメタクリル酸メチル、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリオレフィン等の樹脂が挙げられる。基体 2 0 2 に形成する凹凸形状 2 0 4 は、金属層 2 0 3 を積層したときにその表面に所望の

回折格子 2 0 5 が得られるように金属層 2 0 3 の厚み等を考慮して形成する。形成方法としては、上述のレーザ加工の他、射出成型、圧縮成型、エッチング等によって形成してもよい。凹凸形状 2 0 4 としては、矩形波形状、正弦波形状、鋸歯状形状等があり得るが、回折格子 2 0 5 において回折現象が起き、エバネッセント波を生じせしめることのできる形状であれば形状に限定はない。ただし、凹凸形状 2 0 4 の溝ピッチは、連続する 4 つの領域 2 4 1, 2 4 2, 2 4 3, 2 4 4 毎に異なるようにし、領域 2 4 1 では溝ピッチを d_1 とし、領域 2 4 2 では溝ピッチ d_2 、領域 2 4 3 では溝ピッチ d_3 、領域 2 4 4 では溝ピッチ d_4 とする。
10 。なお、凹凸形状 2 0 4 の深さ（回折格子 2 0 5 の深さ）は反射光の強度ピークのシャープネスに関係して分解能に影響する。

金属層 2 0 3 は、表面プラズモン波を誘起しうるものであればその材質に限定はない。例えば、金、銀、アルミニウム等を用いることができる。感度や安価な点では銀が好ましいが、安定性の面では金が好ましい。
15 。なお、金属層 2 0 3 の厚みが小さい場合には、照射光が金属層 2 0 3 を透過して基体 2 0 2 の表面に達し、照射光が基体 2 0 2 表面の凹凸形状 2 0 4 により回折する場合もある。この場合は凹凸形状 2 0 4 が回折格子として機能することになる。

基板 2 0 2 への金属層 2 0 3 の塗布方法は、基板 2 0 2 と金属層 2 0 3 が十分に強く結合できる方法ならばその方法に限定はない。代表的には蒸着、スパッタリング、めっき等が挙げられる。また、基板 2 0 2 と金属層 2 0 3 との間に何らかの別の物質を例えば接着性を挙げるために使用しても構わない。さらに、金属層 2 0 3 の表面に保護膜や活性化膜等をコーティングして、金属層 2 0 3 の表面に何らかの機能を保有させるようにしてもよい。
20
25

なお、上記のセンサチップ 1 は、図 1 9 に示すセンサチップ 2 0 1、

のように変形して実施することも可能である。すなわち、回折格子 2 0 5 の溝ピッチが異なる各領域 2 5 1 ~ 2 5 4 を連続して並べるのではなく、溝方向を同一にして金属層 2 3 上に離散的に配置するのである。このような構造によっても、上記のセンサチップ 2 0 1 と同様の作用効果 5 を得ることができる。

次に、本実施形態にかかるセンサチップ 2 0 1 の使用方法について説明する。

センサチップ 1 を試料の分析に用いる際には、図 1 6 に示すようにセンサ面 2 0 1 a に結合物質 2 0 6 , 2 0 7 を固定化したものを用いる。

10 そして、このように結合物質 2 0 6 , 2 0 7 が固定化されたセンサチップ 2 0 1 を図 2 0 に示す構成の分析装置 2 1 0 にセットして分析を行う。この分析装置 2 1 0 はセンサチップ 2 0 1 を固定するためのホルダ（保持手段） 2 1 1 , 光源（光照射手段） 2 1 2 , 光検出器（受光手段） 2 1 3 及び分析部 2 1 4 から主に構成されている。

15 ホルダ 2 1 1 には検出種を含む試料流体が通過する流路 2 1 1 a が形成されている。センサチップ 2 0 1 はそのセンサ面 2 0 1 a が流路 2 1 1 a を流れる試料に接するように配置されて固定される。

光源 2 1 2 はセンサチップ 2 0 1 のセンサ面 2 0 1 a に向けて光を照射するようにセンサチップ 2 0 1 に対して流路 2 1 1 a を挟んで配置さ

20 れる。光源 2 1 2 は単色光でもよく、多成分の光（例えば白色光）でもよい。また、コヒーレントな光であるか否かも問わない。単色光の光源としては、レーザ光源、特に価格、大きさの点で半導体レーザが好ましい。また、ハロゲン・タングステンランプなどの白色光を干渉フィルターや分光器等で分光して得た単色光を光源として用いることも可能である。

25 一方、白色光の光源としては、ハロゲン・タングステンランプ、キセノンランプ等が好ましい。

光検出器 2 1 3 はセンサチップ 2 0 1 からの反射光を検出する検出器である。光検出器 2 1 3 としては、例えば C C D 素子を集積したものやシリコンフォトダイオードアレイ等が好ましい。なお、図中では省略しているが、P 偏光のみが表面プラズモン波を共鳴させることができるため、光源 2 1 2 とセンサチップ 2 0 1 との間、またはセンサチップ 2 0 1 と光検出器 2 1 3 との間には、光源 2 1 2 からの照射光、或いはセンサチップ 2 0 1 からの反射光を偏光するための偏光子が設置されている。

分析部 2 1 4 は光検出器 2 1 3 からの検出情報に基づき分析処理を行う装置である。分析部 2 1 4 は、本発明にかかる検出手段及び分析手段として機能する。以下、分析部 2 1 4 の各機能とあわせて、本実施形態にかかるセンサチップ 2 0 1 を用いた試料の分析手順について具体的に説明する。

まず、センサチップ 2 0 1 をホルダ 2 1 1 にセットしてセンサチップ 2 0 1 のセンサ面 2 0 1 a を試料に接触させる（ステップ B 1）。これによりセンサ面 2 0 1 a に固定された結合物質 2 0 6, 2 0 7 に試料流体中の検出種が特異的に結合する。そして結合した検出種の物質質量に応じて結合物質 2 0 6, 2 0 7 が固定化された各スポットの金属層 2 0 3 表面近傍の媒質の屈折率が変化し、各スポットにおける表面プラズモン波の共鳴条件が変化する。

次に、光源 2 1 2 からセンサ面 2 0 1 a に向けて照射角度一定で単色光を照射する（ステップ B 2）。ここでは、結合物質 2 0 6, 2 0 7 が固定化された全スポットを照らすように照射光の太さを調整する。これにより、全てのスポットを同時に測定することができる。センサ面 2 0 1 a に照射された照射光は表面に形成された回折格子 2 0 5 において回折光を生じさせる。このうち 0 次の回折光（反射光）を光検出器 2 1 3

によって検出する（ステップB 3）。

光検出器 2 1 3 により検出された反射光の情報は分析部 2 1 4 に送られる。分析部 2 1 4 は、光検出器 2 1 3 からの反射光の情報から結合物質 2 0 6, 2 0 7 が固定された各スポットからの反射光の情報を抽出して、スポット毎に反射光の強度を調べる。そして、各スポットからの反射光の強度に基づき、検出種毎（結合物質 2 0 6, 2 0 7 毎）に共鳴現象が生じる回折格子 2 0 5 の溝ピッチを検出する。具体的には、検出種毎に反射光の強度が最小となるスポットを検出し、そのスポットにおいて共鳴現象が生じているものと見なすか、或いは、ソフトウェアを用いて各スポットの反射光の強度に基づき共鳴現象が生じる溝ピッチを補間計算する。（ステップB 4 - 1）。

そして、分析部 2 1 4 は、共鳴現象が生じる溝ピッチを別途測定して得られた検量線（或いは理論的な濃度換算式）に対応させて、試料中の各検出種の濃度を分析する。ここでは分析部 2 1 4 は本発明にかかる分析手段として機能する（ステップB 5 - 1）。

一方、反射光強度の変化量に基づき試料の分析を行うこともできる。この方法は、入射角度或いは入射波長に対する反射光の強度分布は、結合物質に捕捉された検出種の量、すなわち試料中の検出種の濃度に応じて変化することから、入射角度、入射波長一定の条件で反射光の強度を計測し、その条件における強度の変化量（試料に接していない状態からの変化量）に基づき濃度等を分析するようにしたものである。この場合は、上述のステップB 1 からステップB 3 までの処理によりセンサ面 2 0 1 a からの反射光を検出すると、分析部 2 1 4 は、得られた反射光の情報を抽出して、領域 2 5 1 ~ 2 5 4 毎に反射光の強度を検出する。そして、センサ面 2 0 1 a に試料が接触していない状態に対する反射光

強度の変化量を領域 2 5 1 ~ 2 5 4 毎に測定する（ステップ B 4 - 2）

。

次に、分析部 2 1 4 は、反射光強度の変化量が所定の測定レンジ（測定許容範囲）内にある、すなわちレンジオーバーしていない領域（回折格子）を選定する。そして、選定したレンジオーバーしていない領域からの反射光強度の変化量とその領域の溝ピッチとを検量線（濃度既知の試料を用いた試験により溝ピッチと反射光強度の変化量との関係を予め求めたもの）に照合して、資料中の検出種の濃度を分析する（ステップ B 5 - 2）。

10 エバネッセント波の波数は回折格子面への照射光の入射角度に変化することから、反射光強度の変化量も入射角度により変化し、入射角度如何によっては変化量が大きくなりすぎて分析部 2 1 4 に含まれる測定器の測定レンジを越えてしまう場合がある。この場合、従来は、光学系の再調整により入射角度を変更する必要があった。特に多項目測定を行う
15 場合において、検出種間の濃度差が大きい場合には、測定しようとする検出種毎に入射角度を変更しなければならなかった。しかしながら、本実施形態のセンサチップ 2 0 1 には、溝ピッチが異なる複数の領域（回折格子面） 2 5 1 ~ 2 5 4 が設けられているので、照射光の入射角度を変更せずとも別の領域（回折格子面）を選定することで実質的に入射角
20 を変更したことになる。つまり、実質的に計測レンジを拡大したことに相当する。その結果、広い計測レンジが必要となる濃度域の広い試料についても対応することが可能となる。

このような手法により分析を行うことで、従来の方法のように光学系の再調整等の煩雑な操作の必要がなく、且つ、従来の角度変化型に比較
25 して簡単な装置構成、特に、簡単な光学系により試料の分析が可能になる。なお、上記の各ステップ B 1 ~ A 5 は、上述のように順に実行する

他に同時に実行することも可能である。各ステップを同時実行する場合には、試料中の検出種が結合物質 206, 207 に結合していく様子をリアルタイムでモニタすることが可能になる。

5 なお、ここでは単一波長の光を単一の角度（固定角度）で照射する方法について説明したが、単一波長の光を照射角度を変化させながら照射する方法にも本実施形態にかかるセンサチップ 201 を用いることができる。この方法では、反射光強度に基づき共鳴現象が生じる溝ピッチを計測（または補間計算）し、共鳴現象が生じる溝ピッチ、及び共鳴現象が検出された位置における反射光の強度（実際には、反射光強度から測定された共鳴角）に基づき、別途測定して得られた検量線（或いは理論的
10 的な濃度換算式）から試料中の検出種の濃度を分析する。

 また、ここでは光源 212 として単色光を用いる場合について説明したが、白色光を光源 212 に用いる場合には、図 17 に示すように計測レンジ（ $\omega 1 \sim \omega 2$ ）内にある全ての共鳴ポイント P 11, P 21, P
15 42 を一度に検出することができる。したがって、結合物質 206 に対応する検出種の濃度は、共鳴ポイント P 11 に対応する溝ピッチ d 1 及び共鳴現象が検出された位置（領域 251）における反射光の強度（実際には、反射光強度から測定された共鳴波長）に基づき、或いは、共鳴ポイント P 21 に対応する溝ピッチ d 2 及び共鳴現象が検出された位置
20 （領域 252）における反射光の強度に基づき、別途測定して得られた検量線（或いは理論的な濃度換算式）から、分析することができる。一方、結合物質 207 に対応する検出種の濃度は、共鳴ポイント P 42 に対応する溝ピッチ d 4 及び共鳴現象が検出された位置（領域 254）における反射光の強度に基づき、分析することができる。

25 （L）第 12 実施形態

 次に、図 21（a）を用いて本発明の第 12 実施形態を説明する。な

お、第 1 1 実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ 2 6 1 は、第 1 1 実施形態と同様その基本構成は従来のセンサチップと共通しており、表面（センサ面） 2 6 1 a を金属層 2 0 3 により被覆され、金属層 2 0 3 上に回折格子 2 0 5 が形成されている。

ここでは、溝ピッチの異なった領域 2 5 1, 2 5 2, 2 5 3, 2 5 4 の一部には回折格子 2 0 5 が形成されていない領域（以下、非回折面という） 2 5 1 x, 2 5 2 x, 2 5 3 x, 2 5 4 x がそれぞれ形成されている。その他の構成は、第 1 1 実施形態と同一である。

10 この構造によれば、センサチップ 2 6 1 からの反射光は、回折格子 2 0 5 が形成された面である領域 2 5 1 ~ 2 5 4 で反射して表面プラズモン共鳴により強度を弱められた反射光（以下、共鳴反射光という）と、非回折面 2 5 1 x ~ 2 5 4 x で反射し、表面プラズモン共鳴の影響を受けていない反射光（以下、基準反射光という）とに別けられる。

15 このような特性により、本実施形態のセンサチップ 2 6 1 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 1 実施形態と同様の手法に加え、計測される共鳴反射光の強度を、共鳴反射光が反射した回折格子面と同じ回折格子面にある非回折面で反射した基準反射光の強度で補正するステップを備えることができる。これにより、第 1 1 実施形態と同様の利点に加えて、基準反射光の強度を考慮した補正によって、各回折格子面間の表面特性による誤差の影響を補正することができ、より正確な分析を行うことが可能となるという利点がある。

25 図 2 1 (b) を用いて詳しく説明する。図 2 1 (b) は、センサチップ 2 6 1 の表面構造と反射光強度との関係を模式的に示した概要図である。

上述したように、センサチップ 2 6 1 表面には異なる溝ピッチの回折

格子を形成された領域 2 5 1 ～ 2 5 4 が存在しており、これらの領域 2 5 1 ～ 5 4 はそれぞれ表面特性が異なっている。この表面特性の相異はセンサチップの製造段階に起因する微小なものが主であるが、微小であってもセンサチップから反射してくる反射光の強度に影響を及ぼす。したがって、その領域 2 5 1 ～ 2 5 4 から反射する反射光も異なったものになる。

本発明のセンサチップ 2 6 1 の目的は、センサチップ 2 6 1 表面に存在する試料を表面プラズモン波とエバネッセント波との共鳴を利用して分析することであるため、試料の性質によらずセンサチップ 2 6 1 の表面特性の違いによって反射光にばらつきが生じることは好ましくない。

したがって、本実施形態では各領域 2 5 1 ～ 2 5 4 にある、回折格子の存在しない領域 2 5 1 x ～ 2 5 4 x からの反射光の強度を用いて、各領域 2 5 1 ～ 2 5 4 からの反射光の強度をそれぞれ補正している。

例えば図 2 1 (b) においては、領域 2 5 1 からの反射光の強度と領域 2 5 1 x からの反射光の強度との差を、表面プラズモン波とエバネッセント波との共鳴により減少した反射光の強度であるとしている。

この様な補正を行うことで、より正確な分析が可能となるのである。

(M) 第 1 3 実施形態

次に、図 2 2 を用いて本発明の第 1 3 実施形態を説明する。なお、第 1, 第 2 実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ 2 7 1 は、第 1 1 実施形態と同様その基本構成は従来のセンサチップと共通しており、表面 (センサ面) 2 7 1 a を金属層 2 0 3 により被覆され、金属層 2 0 3 上に回折格子 2 0 5 が形成された領域 2 5 1 ～ 2 5 4 が設けられている。

ここでは、領域 2 5 1 ～ 2 5 4 上に、結合物質 2 0 6 の他に非結合物質 2 9 1 を固定化する。非結合物質 2 9 1 は、検出すべき検出種と特異

的に結合しうる性質を備えない物質であり、検出すべき検出種（化学種、生化学種又は生物種等）に応じた非結合物質 2 9 1 が選択される。試料中に複数の検出種が含まれる場合には、各検出種に応じた結合物質 2 0 6 及び非結合物質 2 9 1 がそれぞれ選択されて、それぞれ別々の領域 2 5 1 ～ 2 5 4 に固定化される。したがって、結合物質 2 0 6 が固定化された領域は反応領域となり、非結合物質 2 9 1 が固定化された領域及び結合物質 2 0 6 と非結合物質 2 9 1 とが共に固定化されていない領域は非反応領域となる。また、金属層 2 0 3 を形成する金属と検出種とが特異的に結合しない場合には、非結合物質 2 0 9 1 を固定化せずに、結合物質 2 0 6 及び非結合物質 2 9 1 が共に固定化されず金属層 2 0 3 が剥き出しとなっている領域を非反応領域としても良い。

この他の構成は、第 1 1 実施形態と同一である。

この構造によれば、領域 2 5 1 ～ 2 5 4 から反射される反射光は、反応領域で反射される反射光と非反応領域で反射される反射光とに別けられる。反応領域で反射される反射光は試料の定量的及び／又は定性的な要素によって変化するが、非反応領域で反射される反射光は試料の影響を受けず回折格子面の構造によってのみ強度が決定される。

このような特性により、本実施形態のセンサチップ 2 7 1 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 1 実施形態と同様の手法に加え、反応領域及び非反応領域のそれぞれにおいて表面プラズモン共鳴が発生する溝ピッチを特定するステップと、さらに、反応領域及び非反応領域の溝ピッチに基づき分析をするステップとを行う。これにより、検出種が反応領域で結合物質と結合した時の反射光を、反応領域近傍の非反応領域で反射した反射光を基準として分析することができるため、第 1 1 実施形態と同様の利点に加えて、検出種が結合物質と特異的に結合することにより生じる変化を確実に分析することができる。

(N) 第 1 4 実施形態

次に、図 2 3 を用いて本発明の第 1 4 実施形態を説明する。なお、第 1 1 ～第 1 3 実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

本実施形態は、第 1 1 実施形態の分析装置 2 1 0 の、試料流体が流れる流路 2 1 1 a の上流に、試料流体を分離する分離装置 2 9 2 が設置された構造となっている。

分離装置 2 9 2 としては、試料の吸着性や分配係数に応じて分離を行う液体クロマトグラフィーや H P L C (high performance liquid chromatography), 試料の電気陰性度に応じて分離を行うキャピラリー電気泳動やマイクロチップ電気泳動, マイクロチャネル或いはフローインジェクションなどが好適であるが、もちろんこの他の装置を分離装置として分析装置に取り付けても良い。

マイクロチャネルは何らかのチップ表面に形成された試料が流れる溝のことであるが、この溝の一部に H P L C のカラム充填材に相当するものを詰めたり、溝表面に官能基を備えさせたりすることで、分離が可能となるものである。

また、フローインジェクションは試料が流れている状態で様々な反応を起こさせる手法であるが、例えば錯形成反応と溶媒抽出とを行い、試料中の検出種以外の物質を除去する等の処理をして、分離を行うことができる。

なお、もちろん上記以外の装置を分離装置として分析装置に取り付けても良い。

この装置を用いて分析を行う場合、酵素やたんぱく質等の検出種を予め分離装置によって純粋な物質ごとに分離することができる。このため、純粋な物質となった検出種を分析することができ、より正確な分析を行うことができる。

また、分析手段として通常用いられている検出方法（吸光度検出、蛍光検出、化学発光検出、示差屈折計検出、電気化学検出など）と組み合わせることにより、各種の存在物質の存在量と、その中での検出対象種の特異的反応計測による測定とを同時に行うことができる。

5 (O) 第 1 5 実施形態

次に、図 2 0 を用いて本発明の第 1 5 実施形態を説明する。なお、第 1 1 ～第 1 4 実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

本実施形態は、第 1 1 実施形態と基本的な構成は共通しており、光源 2 1 2 から照射された光はセンサチップで反射し、光検出部 2 1 3 で検
10 出されるよう構成されている。

ここでは、検出種は蛍光や燐光などの光を発生しうる発光物質である。例えば、結合物質と反応することや、光源 2 1 2 から供給される光によって励起されることにより発光する発光物質がある。本実施形態では光検出部 2 1 3 がこの発光した光（発光光）を検出できるように構成さ
15 れている。

このような構成により、第 1 1 実施形態の利点に加え、本実施形態は発光光の検出結果を用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うことができ、したがってより正確な分析を行うことができる。特に蛍光などの化学発光は非常に高感度であるため、微小な反応を検出すること
20 が可能である。

(P) 第 1 6 実施形態

次に、図 2 4，図 2 5 を用いて本発明の第 1 6 実施形態を説明する。なお、第 1 1 ～第 1 5 実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

25 本実施形態は、第 1 1 実施形態と基本的な構成は共通しており、分析装置は光源 2 1 2 から照射された光はセンサチップ 2 8 1 で反射し、光

検出部 2 1 3 で検出されるよう構成されている。またセンサチップ 2 8 1 は、第 1 1 実施形態と同様その基本構成は従来のセンサチップと共通しており、表面（センサ面） 2 8 1 a を金属層 2 0 3 により被覆され、金属層 2 0 3 上に回折格子 2 0 5 が形成された領域 2 5 1, 2 5 2, 2 5 3, 2 5 4 が設けられている。

ここでは、図 2 4 に示すように、試料が流れる流路 2 8 0 が回折格子 2 0 5 が形成されている方向と直交する向きに複数設けられている。流路 2 8 0 はセンサチップ 2 8 1 表面を覆う蓋 2 8 6 とセンサチップ 2 8 1 との間に設けられ、ともにセンサチップ上の各領域 2 5 1 ~ 2 5 4 を通過するよう形成されている。なお、流路 2 8 0 と流路 2 8 0 との間には、試料が混ざらないようにシールが施されている。

また、図 2 5 に示すように、分析装置 2 1 0 の流路 2 8 0 の上流に、異なる試料流体それぞれを各流路 2 8 0 に割り当てて、割り当てた試料流体を各流路に導入する試料導入装置 2 8 7 が設置されている。

このような特性により、本実施形態のセンサチップ 2 8 1 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 1 実施形態と同様の手法に加え、異なる複数の試料を各流路に割り当て、割り当てた流路に試料を流してセンサ面に光を照射するステップを行うことができ、また、第 1 1 実施形態と同様の分析を流路毎に行うことができる。

この様な構成により、第 1 1 実施形態の利点に加え、本実施形態は複数の検出種を同時に分析することができるため作業を効率的に行うことができる。また、複数の検出種を同じ条件下で分析できるため、検出種の違いを明確に分析することが可能となる。

詳しく説明する。

センサチップ 2 8 1 の正面図を図 2 6 に示す。図 2 6 (a) に示すように、センサチップ 2 8 1 表面に形成された回折格子 2 0 5 は、溝に垂

直な方向に連続する４つの領域（回折格子面） G_1 、 G_2 、 G_3 、 G_4 毎に溝ピッチが異なっている。

このセンサチップ２８１表面には、溝に垂直な方向に形成された m 本の流路 P_1 、 P_2 、 $\dots$ 、 P_m が形成されている。流路 P_1 、 P_2 、 $\dots$ 、 P_m 上には、溝ピッチの異なる領域 G_1 、 G_2 、 G_3 、 G_4 それぞれに結合物質２０６がスポット上に固定化されている。

従来例と比較して実施形態の効果を説明する。図２６（ｂ）に示す従来例では、溝ピッチが均一な回折格子を形成されたセンサチップが表面に試料を流すための m 本の流路 P_1 、 P_2 、 $\dots$ 、 P_m を備えていた場合、分析できる検出種の種類の最大数は形成された流路の数と同じ m 種類であった。また従来のセンサチップにおいては計測レンジが狭いため、光を照射したときに共鳴ポイントが計測レンジ内に無い時や、さらに多くの共鳴ポイントを検出したい時には、入射光の波長を変えたり入射角度を変えたりする必要があった。

しかし本願発明のセンサチップ２８１においては、分析可能な検出種の種類の最大数は従来例と同じく m 種類であり、そのうえ、溝ピッチに応じて入射光の波長や入射角度を変更することなく共鳴ポイントを検出したり、溝ピッチに応じた広い計測レンジの共鳴ポイントを検出したりすることができるのである。

さて、複数の溝ピッチと複数の流路とをともに形成することで、上述のような利点をもつセンサチップを得ることができるのであるが、結合物質の配置を変化させることでさらに優れた利点を得ることができる。

以下、例を示してさらに詳しく説明する。なお、以下の各例においては、領域の種類の数及び固定化した結合物質の組み合わせ以外は前述した第１６実施形態の構成と同一の構成をとっている。

（例６－１）

入射光の入射角度を変化させながら、反射光の角度を検出する場合について説明する。

図 2 7 (a) に示すように、溝ピッチが異なる 2 つの領域、即ち低角度検出部 G 1 と高角度検出部 G 2 とをもつセンサチップ 2 9 4 において、2 つの領域それぞれに対して n 種類の結合物質 S 1, S 2, … S n を固定化する。このとき、結合物質と検出種との反応を広い計測レンジで分析するという目的のために、各領域における結合物質 S 1, S 2, … S n の組み合わせは同一流路上では同じにする。

したがって、検出可能な検出種と結合物質との組み合わせは $m \times n$ 通りとなり、一つのセンサチップ 2 9 4 で多くの検出種についての分析が可能となる。そのうえ低角度検出部 G 1 及び高角度検出部 G 2 の 2 つの計測レンジで計測を行えるため、従来よりも広い計測レンジでの計測ができる。

なお、このときどの流路 P 1, P 2, … P m のどの領域 G 1, G 2 にどの結合物質 S 1, S 2, … S n を固定化させるかは、分析する検出種に応じて任意に決定することができる。

(例 6 - 2)

入射光の入射角度を変化させながら、反射光の角度を検出する場合について説明する。

図 2 7 (b) に示すように、センサチップ 2 9 5 に溝ピッチが異なる領域 G 1, G 2, … G i を多数設けて、各領域 G 1, G 2, … G i に複数種の結合物質 S 1, S 2, … S n を n 箇所固定化する。

これにより、領域の種類の数 i に応じてさらに広い計測レンジで共鳴ポイントを検出することが可能となる。結合物質 S 1, S 2, … S n の種類は、例 6 - 1 のように各領域 G 1, G 2, … G i で同一としても良いし、領域にかかわらず任意としても良い。結合物質 S 1, S

2, ... S_nの種類を各領域G₁, G₂, ... G_iで同一とした場合は、例6-1と同様に、結合物質S₁, S₂, ... S_nと検出種との複数の反応をより広い計測レンジで計測できる。一方結合物質S₁, S₂, ... S_nの種類を各領域G₁, G₂, ... G_iで異なるのと
5 した場合には、予め反応の程度が分かっている結合物質S₁, S₂, ... S_nと検出種との複数の反応などを、一度に分析することができる。

また、例6-1と同様に、どの流路P₁, P₂, ... P_mのどの領域G₁, G₂, ... G_iにどの結合物質S₁, S₂, ... S_nを固
10 定化させるかは、分析する検出種に応じて任意に決定することができる。

(例6-3)

入射光の入射角を固定し、反射光の強度を検出する場合について説明する。

15 図27(c)に示すように、溝ピッチが異なる領域G₁, G₂, ... G_iが複数設けられたセンサチップ296の各領域G₁, G₂, ... G_iに、n種類の結合物質S₁, S₂, ... S_nを固定化する。このとき、結合物質S₁, S₂, ... S_nと検出種との反応を広い計測レンジで分析するという目的のために、各領域G₁, G₂, ... G_i
20 における結合物質S₁, S₂, ... S_nの種類の組み合わせは同一流路上では同じにする。

これにより、入射光の入射角度を変化させることなく、広い計測レンジの結合物質S₁, S₂, ... S_nと検出種との反応を分析することができる。したがって、例6-1と同様に複数の検出種を分析できる上
25 、入射光の入射角度を変化させる時間が必要なく、時間分解能に優れた観測を行うことができる。

また、例 6-1, 6-2 と同様に、どの流路 P 1, P 2, . . . P のどの領域 G 1, G 2, . . . G i に結合物質 S 1, S 2, . . . S n を固定化させるかは、分析する検出種に応じて任意に決定することができる。

5 (Q) 第 17 実施形態

次に、センサチップ表面の拡大図である図 28 を用いて本発明の第 17 実施形態を説明する。なお、第 11 ~ 第 16 実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

本実施形態は、第 11 実施形態と同一の分析装置 210 及び同一のセンサチップを用いた構造を持っている。

ここでは、図 28 (a) に示すように、結合物質 206, 207 のスポットが溝ピッチの異なる領域 251, 252 及び 253, 254 の境目に固定化されている。

これにより、固定化する結合物質 206, 207 のスポット数を少なくして、分析を行うことができ、ひいてはセンサチップの小型化や 1 回の検出で検出できる反応の増加を促進することができる。

詳しく説明する。

図 28 (b) に示す従来例のように、結合物質 206, 207 のスポットが各領域 251 ~ 254 それぞれの内部に収まるように固定化されている場合には、領域 251 ~ 254 の数と同数の結合物質 206, 207 のスポットを、結合物質 206, 207 の種類ごとに固定化しなくてはならず、また、各スポットにつき 1 個の検出領域 293 しか設けられなかった。なお、ここでいう検出領域 293 とは、光検出される反射光が反射する領域のことであり、図 28 では四角形となっているが円形等の形状でも良く、その形状は任意に決められる。

しかし、図 28 (a) に示すように、溝ピッチの異なる領域 251,

252及び253, 254の境目に結合物質206, 207のスポットを固定化すると、各スポット内において、溝ピッチの異なる一方の領域側と他方の領域側とに検出領域を設けることができる。したがって、1個のスポットにつき2種類の計測レンジで計測をすることができる。

- 5 また、結合物質を固定化する位置は、溝ピッチが異なる2種類の領域の境目に限定されるものではなく、溝ピッチが異なる領域の境目であれば何種類の領域の境目であってもよい。たとえば図28(c)に示すように、溝ピッチの異なる4種類の領域251～254の境目が十字型になるように回折格子が形成されているセンサチップにおいては、境目
10 が形成する十字型の中心に結合物質206, 207のスポットが位置するように固定化すれば、結合物質206, 207のスポットと各領域251～254とが重なる領域それぞれに検出領域293を設けることができ、1個のスポットにつき4個の検出領域293を設けることができる。したがって、1個のスポットにつき4種類の計測レンジで計測を行
15 うことができる。

(R) 第18実施形態

次に、図25, 29を用いて本発明の第18実施形態を説明する。なお、第11～第17実施形態と実質同一部分には同一符号を付して説明する。

- 20 本実施形態は、第11実施形態と基本的な構成は共通しており、分析装置は光源212から照射された光はセンサチップ300で反射し、光検出部213で検出されるよう構成されている。またセンサチップ300は、第11実施形態と同様その基本構成は従来のセンサチップと共通しており、表面(センサ面)281aを金属層203により被覆され、
25 金属層203上に回折格子205が形成された領域251, 252, 253, 254が設けられている。

ここでは、図 2 9 に示すように、試料が流れる流路 2 8 0 が回折格子 2 0 5 が形成されている方向と直交する向きに複数設けられている。流路 2 8 0 はセンサチップ 3 0 0 表面を覆う蓋 2 8 6 とセンサチップ 3 0 0 との間に設けられ、ともにセンサチップ上の各領域 2 5 1 ~ 2 5 4 を 5 通過するよう形成されている。なお、流路 2 8 0 と流路 2 8 0 との間には、試料が混ざらないようにシールが施されている。

また、流路 2 8 0 上の各領域 2 5 1 ~ 2 5 4 には、結合物質 2 0 6 と非結合物質 2 9 1 とが固定してある。非結合物質 2 9 1 は、検出すべき検出種と特異的に結合しうる性質を備えない物質であり、検出すべき検出種（化学種、生化学種又は生物種等）に応じた非結合物質 2 9 1 が選 10 択される。試料中に複数の検出種が含まれる場合には、各検出種に応じた結合物質 2 0 6 及び非結合物質 2 9 1 がそれぞれ選択されて、それぞれ別々の領域 2 5 1 ~ 2 5 4 に固定化される。したがって、結合物質 2 0 6 が固定化された領域は反応領域となり、非結合物質 2 9 1 が固定化された領域及び結合物質 2 0 6 と非結合物質 2 9 1 とが共に固定化され 15 ていない領域は非反応領域となる。また、金属層 2 0 3 を形成する金属と検出種とが特異的に結合しない場合には、非結合物質 2 9 1 を固定化せずに、結合物質 2 0 6 及び非結合物質 2 9 1 が共に固定化されず金属層 2 0 3 が剥き出しとなっている領域を非反応領域としても良い。

さらに、図 2 5 に示すように、分析装置 2 1 0 の流路 2 8 0 の上流に、異なる試料流体それぞれを各流路 2 8 0 に割り当てて、割り当てた試料流体を各流路に導入する試料導入装置 2 8 7 が設置されている。

この他の構成は、第 1 1 実施形態と同一である。

この構造によれば、領域 2 5 1 ~ 2 5 4 から反射される反射光は、反応領域で反射される反射光と非反応領域で反射される反射光とに別けら 25 れる。反応領域で反射される反射光は試料の定量的及び／又は定性的な

要素によって変化するが、非反応領域で反射される反射光は試料の影響を受けず回折格子面の構造によってのみ強度が決定される。

このような特性により、本実施形態のセンサチップ 3 0 0 を用いて試料の分析を行う場合には、第 1 1 実施形態と同様の手法に加え、異なる
5 複数の試料を各流路に割り当て、割り当てた流路に試料を流してセンサ面に光を照射するステップと、流路毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれにおいて表面プラズモン共鳴が発生する溝ピッチを特定するステップと、さらに、流路毎に反応領域及び非反応領域の溝ピッチに基づき分析をするステップとを行う。

10 これにより、検出種が反応領域で結合物質と結合した時の反射光を、反応領域近傍の非反応領域で反射した反射光を基準として分析することができるため、第 1 1 実施形態と同様の利点に加えて、第 1 3 実施形態と同様に、検出種が結合物質と特異的に結合することにより生じる変化を確実に分析することができる。また、第 1 6 実施形態と同様に、複数
15 の検出種を同時に分析することができるため作業を効率的に行うことができ、複数の検出種を同じ条件下で分析できるため、検出種の違いを明確に分析することが可能となる。

(S) 第 1 9 実施形態

次に、図 3 0 を用いて本発明の第 1 9 実施形態にかかるセンサチップ
20 (表面プラズモン共鳴センサチップ) 2 2 1 の構成について説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ 2 2 1 は、第 1 1 実施形態と同様その基本構成は従来のセンサチップと共通しており、表面 (センサ面) 2 2 1 a を金属層 2 2 3 により被覆され、金属層 2 2 3 上に回折格子 2 2 5 が形成されている。本実施形態では、回折格子 2 2 5 は連続的な溝ピ
25 ッチの分布を持って形成されている。具体的には、図 3 1 は図 3 0 中の矢印 X 方向における溝ピッチを示したものであるが、図 3 1 中に実線で

示すように隣接する溝間で溝ピッチが滑らかに変化するように回折格子 2 2 5 が形成されている。なお、図 3 1 中の一点鎖線は第 1 1 実施形態のセンサチップにおける溝ピッチの変化を示したものであり、二点鎖線は従来のセンサチップにおける溝ピッチの変化を示したものである。

- 5 光の照射により回折格子 2 2 5 で発生するエバネッセント波の波数は、数 2 に示すように回折格子 2 2 5 の格子定数に依存し、この格子定数は回折格子 2 2 5 の溝ピッチに依存することから、上記のような構造によれば、一定の波数の照射光に対して連続的な波数の分布を有するエバネッセント波を得ることができる。この場合、表面プラズモン波，エバ
10 ネッセント波それぞれの角振動数 ω と波数 k との関係を示す分散関係図は図 3 2 に示すようになる。

図 3 2 において、符号 C で示す帯域が回折格子 2 2 5 全体で発生するエバネッセント波の角振動数 ω と波数 k との関係を示しており、これは入射光の角振動数 ω と波数 k との関係を示す直線 B 0 に平行な直線
15 の集合である。そして、ここでは、曲線 A 1，A 2 が帯域 C に重なる範囲である線分 S 1 S 2，S 3 S 4 が、表面プラズモン共鳴が起きる範囲を示している。

このように表面プラズモン共鳴が起きる範囲が連続的に存在することにより、単波長の光を一定の入射角度で照射した場合でも回折格子 2 2
20 5 上の何れかの位置において共鳴現象が発生する。例えば図 3 2 において、ある角振動数 ω_x の光を照射した場合、曲線 A 1 上の角振動数 ω_x の点 P x が、共鳴現象が起きる共鳴ポイントとなる。この共鳴ポイント P x を通るエバネッセント波（直線 B x で示す）が、曲線 A 1 で示す表面プラズモン波と共鳴するエバネッセント波である。そして、この直線
25 B x に対応する溝ピッチを与える回折格子 2 2 5 上の位置が、実際に共鳴現象が起きている位置である。

本実施形態にかかるセンサチップ 2 2 1 によれば、回折格子 2 2 5 上の何れかの位置において共鳴現象が発生するので、共鳴現象が発生する溝ピッチを求めるにあたり第 1 1 実施形態のような近似や補間計算を用いる必要がない。したがって、図 2 0 の分析装置を用いて試料の分析を行う場合には、反射光の強度から共鳴現象が発生している位置を検出し、その位置における溝ピッチ（波長変化型の場合は、さらに反射光強度から測定された共鳴波長、角度変化型の場合は、さらに反射光強度から測定された共鳴角度）を検量線に照合するだけでよく、より簡単に且つより正確に試料中の検出種の濃度を分析することが可能になる。

10 (T) 第 2 0 実施形態

次に、図 3 3 を用いて本発明の第 2 0 実施形態にかかるセンサチップ（表面プラズモン共鳴センサチップ） 2 3 1 の構成について説明する。

本実施形態にかかるセンサチップ 2 3 1 は、従来同様に表面（センサ面） 2 3 1 a を金属層 2 3 3 により被覆されて金属層 2 3 3 上に回折格子 2 3 5 が形成されたものであるが、ここでは金属層 2 3 3 上に複数の測定領域 2 3 8 a ~ 2 3 8 d が離散的に設けられ、これら測定領域 2 3 8 a ~ 2 3 8 d 毎に回折格子 2 3 5 が形成されている。

各測定領域 2 3 8 a ~ 2 3 8 d に形成された回折格子 2 3 5 は、溝ピッチは同一であるが、溝方向が全て異なっている。すなわち、測定領域 2 3 8 a における回折格子 2 3 5 の溝方向を基準としたとき、測定領域 2 3 8 b での溝方向は θ_2 だけ傾き、測定領域 2 3 8 c での溝方向は θ_3 だけ傾き、測定領域 2 3 8 d での溝方向は θ_4 だけ傾いている。このため、測定領域 2 3 8 a での溝方向と垂直な方向から見たときには、測定領域 2 3 8 a での溝ピッチは d_1 であるのに対し、測定領域 2 3 8 b での実質的な溝ピッチ d_2 は $d_1 / \cos \theta_2$ 、測定領域 2 3 8 c での実質的な溝ピッチ d_3 は $d_1 / \cos \theta_3$ 、測定領域 2 3 8 d での実質

的な溝ピッチ d_4 は $d_1 / \cos \theta_4$ となる。傾斜角度間の大小関係を $\theta_2 < \theta_3 < \theta_4$ とすると、実質的な溝ピッチ間の大小関係は $d_1 < d_2 < d_3 < d_4$ となり、測定領域 238a ~ 238d 毎に実質的な溝ピッチが異なることになる。

- 5 したがって、本実施形態にかかるセンサチップ 231 によれば、特定の一方から光を照射すれば、各測定領域 238a ~ 238d においてその光の照射方向に対する実質的な溝ピッチに応じた波数のエバネッセント波が生じ、これにより表面プラズモン波とエバネッセント波とが共鳴する共鳴ポイントにも分布が生じるので、第11実施形態と同様、計
- 10 測レンジに制約がある場合でも広範囲の屈折率分布を有する試料の分析に対応することができる。

(U) その他

- 以上、本発明の実施の形態について説明したが、本発明は上述の実施の形態に限定されるものではなく本発明の趣旨を逸脱しない範囲で種々
- 15 変形して実施することができる。

- 例えば、第1実施形態では中央の回折格子面 5e を基準平面 S_0 に平行に配置していたが、図34に示す回折格子面 416a ~ 416e のように、端部の回折格子面 416e を基準平面 S_0 に平行に配置して、光の照射方向に向けて回折格子面 416a ~ 416d の傾斜角度を次第に
- 20 大きくしていくような配置でもよい。ただし、同一の面数の回折格子面を設ける場合には、第1実施形態のように中央の回折格子面 5e を中心にして左右に傾斜角度を大きくしていくような配置の方が中央部の出っ張りを低くすることができるので、試料液の流れを妨げることがない。

- また、各回折格子面は必ずしも連続している必要はなく、図35に示す回折格子面 426a ~ 426e のように、一端は基準面 S_0 と同レベルに配置して他端を立ち上げることにより基準面 S_0 に対して傾斜角度
- 25

を持たせるようにしてもよい。

また、一つの測定スポットにより多くの回折格子面を配置する場合には、図 3 6 に示すように回折格子面 4 3 6 a ~ 4 3 6 k を複数列に配置してもよい。これにより、多数の回折格子面 4 3 6 a ~ 4 3 6 k をコンパクトに配置することが可能になる。

さらに、各実施形態では、特定平面 S 1 に平行な一方向から見たときの基準平面 S 0 に対する傾斜角度が次第に小さくなるように平面状の回折格子面 5 a ~ 5 i を順に配置したり、光が照射される側に向けて凸の曲面形状を有する回折格子面 2 5 を設けたりしているが、これは各回折格子面 5 a ~ 5 i からの反射光や、回折格子面 2 5 の各位置からの反射光が交錯することを防止するための配置或いは形状である。しかしながら、各回折格子面 5 a ~ 5 i 或いは回折格子面 2 5 の各位置からの反射光を区別することができるならば、必ずしもこのような配置或いは形状に限定されるものではない。

また、各実施形態では、本発明のセンサチップをセンサ面に測定スポットが複数設けられた多点同時測定用（或いは多項目測定用）のセンサチップとして構成しているが、センサ面全体が一つの測定スポットであるセンサチップにも本発明を適用することは可能である。

さらに、各実施形態では、金属層の表面に回折格子が形成された従来の一般的な構造の回折格子型センサチップに本発明を適用した場合について説明したが、本発明は他の様々な構造の回折格子型センサチップにも適用しうるものである。すなわち、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子が形成された回折格子面と、回折格子面に沿って設けられ光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起しうる金属層とを備えたセンサチップであれば、本発明を適用することができる。

また、各実施形態を組み合わせることも可能である。例えば

、第3実施形態と第6実施形態とを組み合わせ実施したり、第5実施形態と第7実施形態とを組み合わせ実施したりしても良い。

特に、第3実施形態及び／又は第8実施形態と、第4実施形態及び／又は第9実施形態とを組み合わせ、非回折面による補正と非反応領域
5 による補正とを共に行うようにすることは、正確な分析をより確実に行うことができるため好ましい。即ち、反応領域からの反射光に対し非回折面による補正を行って共鳴角を算出し、さらに、非反応領域からの反射光に対し非回折面による補正を行って共鳴角を算出して、両者の共鳴角から真の特異的反応に由来する共鳴角シフト量と検出種濃度とを算出
10 することができるのである。

また、第4実施形態及び第9実施形態においては、非結合物質としては検出種と特異的反応を起こさない性質を持つ物質を、検出種に応じて選択する場合と、検出種に関係なく同一の物質を使う場合がある。

検出種に応じて非結合物質を選択する場合には、第4実施形態のよう
15 に、同一回折格子面に結合物質と非結合物質との両方を固定化することが好ましい。しかし、センサチップを製造する手間を考慮すると、第9実施形態のように、結合物質が固定化された測定スポットの隣に存在する測定スポットに非結合物質を固定化して、結合物質が固定化された測定スポットの隣に存在する測定スポット自体を非反応領域とする方が有
20 利である。

一方、全ての検出種に対して同一の物質を非反応物質として用いる場合には、ブロッキング剤として使用されているB S A (bovine serum albumin) や、ゼラチンなどを使用することができる。この場合には、第9実施形態のように、センサチップ上の1以上の測定スポットのすべ
25 ての回折格子面に非反応物質を固定化し、その測定スポット自体を非反応領域とする方が製造上有利である。

また、第 1 1 実施形態の変形例（図 1 9 参照）では、離散的に配置された各領域 2 5 1 ～ 2 5 4 の溝方向を同一にしていたが、図 3 7 に示すセンサチップ 1 "のように一部の領域 2 5 4 の溝方向が他の領域 2 5 1 ～ 5 3 と異なっていたり、或いは全ての領域 2 5 1 ～ 2 5 4 の溝方向が異なっていたりしてもよい。この場合、領域 2 5 1 ～ 2 5 4 毎に光の照射方向を変えて溝方向に垂直に光を照射すれば、第 1 1 実施形態と同様の作用効果が得られる。

また、図 3 8 に示すように溝ピッチが異なる複数のセンサチップ 2 4 1 A ～ 2 4 1 D を用意し、これらを一つのセンサチップ 2 4 1 として使用するによっても、第 1 1 実施形態と同様の作用効果が得られる。

さらに、上述の実施形態では、従来の一般的な構造の回折格子型センサチップを用いた場合について説明したが、本発明は他の様々な構造の回折格子型センサチップを用いても実施することができる。すなわち、試料と接するセンサ面と、センサ面の近傍に設けられ表面プラズモン波を誘起しうる金属層と、センサ面の近傍に設けられ照射光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子とを備えたセンサチップであれば、本発明を適用することができる。

また、上述した実施形態は必ずしも単独で実施する必要は無く、各実施形態を組み合わせる実施しても良い。

また、溝ピッチの異なる領域に固定化する結合物質の種類は、必要に応じて任意に決めることができる。

また、各実施形態を組み合わせる実施することも可能である。例えば、第 1 2 実施形態と第 1 4 実施形態とを組み合わせる実施しても良い。

特に、第 1 2 実施形態と第 1 3 実施形態とを組み合わせる、非回折面による補正と非反応領域による補正とを共に行うようにすることは、正確な分析をより確実に行うことができるため好ましい。即ち、反応領域

からの反射光に対し非回折面による補正を行って共鳴角を算出し、さらに、非反応領域からの反射光に対し非回折面による補正を行って共鳴角を算出して、両者の共鳴角から真の特異的反応に由来する共鳴角シフト量と検出種濃度とを算出することができるのである。

- 5 また、第 1 3 実施形態においては、非結合物質としては検出種と特異的反応を起こさない性質を持つ物質を、検出種に応じて選択する場合と、検出種に関係なく同一の物質を使う場合がある。

10 全ての検出種に対して同一の物質を非反応物質として用いる場合には、例えばブロッキング剤として使用されている B S A (bovine serum albumin) や、ゼラチンなどを使用することができる。

 以上例を挙げたように、本発明はその趣旨を逸脱しない範囲で種々変形して実施することができる。

 さて、以下に本発明を実施例を用いて説明するが、その要旨の範囲を越えない限り本発明は実施例に限定されるものではない。

15 (実施例 1)

 平板状のポリカーボネート製の基体の表面に、溝ピッチ約 8 7 0 n m , 溝深さ約 4 0 n m の凹凸形状を形成し、この凹凸形状を回折格子とし、さらに基体の表面に厚さ約 8 0 n m で金を蒸着して、センサチップを作成した。

- 20 続いて、このセンサチップを、1 5 m m × 2 5 m m の矩形に形成し、回折格子が長さ 2 5 m m の辺と平行になるようにした。形成したセンサチップを図 3 9 に示した。

 次いで、センサチップの長さ 1 5 m m の辺の、一端からの距離がそれぞれ約 5 . 5 m m , 4 m m , 5 . 5 m m である点を含む、センサチップ
25 の長さ 2 5 m m の辺に平行な直線を折り目として、このセンサチップを約 0 . 8 ° ずつ折り曲げた。つまり、図 4 0 に示すように、5 . 5 m m

× 2.5 mmの矩形の領域（以下、領域Aという）と4 mm×2.5 mmの矩形の領域（以下、領域Bという）とが、長さ2.5 mmの辺を接しており、領域Bの領域Aと逆側には、領域Bと5.5 mm×2.5 mmの矩形の領域（以下、領域Cという）とが、長さ2.5 mmの辺を接している。

- 5 また、領域Bは、基準面に対し0°を保ち、領域Cは領域Bに対して約0.8°の角度をなし、領域Aは領域Bに対して約-0.8°の角度をなすように折り曲げた。したがって領域Aと領域Cとがなす角度が約1.6°となっている。さらに、計測時には試料をセンサチップの凸側の面で測定できるように、回折格子がセンサチップの凸側の面となるよう
10 にした。

こうして作成したセンサチップの中央部の10 mm×10 mmの領域を測定スポットとして、共鳴角検出型のSPR測定装置 FLEX CHIPS™ Kinetic Analysis System (HTS Biosystems Inc.) で角度スキャンを行いながら反射光の強度を計測した。計測には波長約870 nm
15 mの光を入射光に用い、試料は精製水を用い、それぞれの領域で任意のポイント3箇所計測を行った。

計測された共鳴角前後での入射光の入射角と反射光強度との関係を、図4-1に示す。各グラフにおいて、反射光強度が最小となる角度が共鳴角である。それぞれの領域の計測結果を表1に示す。なお、SDは標準
20 偏差、CVは変動係数である。

領域	ポイント	精製水の共鳴角	平均	SD	CV(%)
A	A-1	21.616	21.641	0.024	0.111
	A-2	21.645			
	A-3	21.663			
B	B-1	20.802	20.791	0.011	0.051
	B-2	20.789			
	B-3	20.781			
C	C-1	19.818	19.860	0.038	0.189
	C-2	19.870			
	C-3	19.891			

表 1

なお、領域 A における 3 箇所の測定ポイントをそれぞれ A-1, A
 - 2, A-3 と表記し、同様に領域 B おける 3 箇所の測定ポイントをそ
 れぞれ B-1, B-2, B-3、領域 C おける 3 箇所の測定ポイントを
 それぞれ C-1, C-2, C-3 と表記した。

表 1 に示すように、それぞれの領域の共鳴角の平均は、領域 A が 21
 . 641°、領域 B が 20. 791°、領域 C が 19. 860° となっ
 た。

次に、図 39 のような、上記のセンサチップを折り曲げず平板状のま
 まとしたセンサチップを別途作成し、領域 A, B, C と同様に共鳴角検
 出型の SPR 測定装置 FLEX CHIPSTM Kinetic Analysis System で角
 度スキャンを行いながら反射光の強度を計測した。入射光には波長約 8
 70 nm の光を用いた。試料は精製水を用いた。以下、平板状のセンサ
 チップの測定スポットを領域 D という。この計測においては、領域 D の
 400 箇所のポイントで計測を行った。

計測された共鳴角前後での入射光の入射角と反射光強度との関係を図
 42 に示す。また、計測結果を表 2 に示す。

領域	ポイント数	精製水の共鳴角	平均	SD	CV(%)
D	400	最大値 20.877 最小値 20.797	20.832	0.019	0.092

表 2

- 5 図 4 2 にあるように、領域 D では共鳴角は全てのポイントで同じ角度となっていた。また、共鳴角の平均は、表 2 のように 20.832° となった。

領域 A, B, C, D において、領域内の回折格子は同じ溝ピッチと溝深さとを有しており、また計測した試料も同じ精製水であるため、各領域の共鳴角は本来同一の角度となるはずである。しかし、領域 A, B, C では、角度を導入していない領域 D に比べて、それぞれ -0.809°, 0.041°, 0.972° の角度を有するため、共鳴角が見かけ上変化したように測定された。

15 以上の結果から、回折格子面に傾斜角度を導入することにより、回折格子面に入射する入射光の入射角を変えることができたことが確認された。

(実施例 2)

実施例 1 と同様に、平板状のポリカーボネート製の基体の表面に、溝ピッチ約 870 nm, 溝深さ約 40 nm の凹凸形状を形成し、この凹凸形状を回折格子とし、さらに基体の表面に厚さ約 80 nm で金を蒸着して、センサチップを作成した。このセンサチップを折り曲げ、異なる傾斜角度を持つ面を 26 面形成した。以下、角度を持つそれぞれの面の領域を、それぞれ水平面に対してなす傾斜角度の小さい順に領域 No. 1、領域 No. 2 と自然数の番号を付けて呼ぶ。

25 こうして 26 の異なる傾斜角度を持つ面を形成されたセンサチップを用いて、SPR 測定装置 FLEX CHIPS™ Kinetic Analysis System で

角度スキャンを行いながら反射光の強度を計測した。試料は精製水を用いた。入射光としては波長が約 870 nm の光を用いた。共鳴角を特定し、傾斜角度を有していない実施例 1 の領域 D の測定結果と比較して、それぞれの領域がどれだけの傾斜角度を有しているかを特定した。測定結果を表 3 に示す。

5 測定結果を表 3 に示す。

領域 No.	精製水の共鳴角	回折格子面の角度
1	21.768	-0.936
2	21.746	-0.914
3	21.734	-0.902
4	21.713	-0.881
5	21.697	-0.865
6	21.665	-0.833
7	21.572	-0.740
8	21.415	-0.583
9	21.364	-0.532
10	21.263	-0.431
11	21.164	-0.332
12	21.120	-0.288
13	21.053	-0.221
14	21.008	-0.176
15	20.954	-0.122
16	20.915	-0.083
17	20.864	-0.032
18	20.802	0.030
19	20.703	0.129
20	20.522	0.310
21	20.284	0.548
22	20.095	0.737
23	20.028	0.804
24	19.971	0.861
25	19.907	0.925
26	19.854	0.978

表 3

その結果、それぞれの領域は $-0.936^{\circ} \sim 0.978^{\circ}$ の角度を有していることが判明した。

次に、これらのセンサチップを用いて、SPR 測定装置 FLEX
 25 CHIPS™ Kinetic Analysis System で波長約 870 nm の光を入射光とし、濃度が 2.5%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50

%であるエタノール水溶液をそれぞれ試料として、反射光の強度を計測した。

それぞれの領域におけるエタノール濃度と、共鳴角がエタノール濃度の増加によって変化した変化量（以下、シフト量という）とを表4に示

5 す。

10

15

20

25

領域 No.	共鳴角 シフト量 (度)							
	EtOH 0%	2.50%	5%	10%	20%	30%	40%	50%
1	0.0000	0.0714	0.1367	0.2763	0.5883	0.9407	レンジオーバー	レンジオーバー
2	0.0000	0.0698	0.1359	0.2783	0.5934	0.9519	レンジオーバー	レンジオーバー
3	0.0000	0.0726	0.1412	0.2907	0.6005	0.9487	レンジオーバー	レンジオーバー
4	0.0000	0.0714	0.1373	0.2802	0.5898	0.9455	1.1919	レンジオーバー
5	0.0000	0.0740	0.1418	0.2850	0.5988	0.9487	1.1865	レンジオーバー
6	0.0000	0.0696	0.1366	0.2798	0.5911	0.9326	1.1738	レンジオーバー
7	0.0000	0.0723	0.1409	0.2887	0.5956	0.9498	1.1771	レンジオーバー
8	0.0000	0.0735	0.1441	0.2878	0.5963	0.9511	1.1844	1.4028
9	0.0000	0.0822	0.1679	0.3460	0.6277	0.9709	1.2037	1.4343
10	0.0000	0.0731	0.1420	0.2817	0.5960	0.9570	1.1932	1.4352
11	0.0000	0.0690	0.1373	0.2816	0.6012	0.9669	1.2186	1.4489
12	0.0000	0.0727	0.1381	0.2756	0.5912	0.9207	1.1873	1.4777
13	0.0000	0.0730	0.1406	0.2899	0.6178	0.9692	1.2071	1.4075
14	0.0000	0.0774	0.1546	0.3095	0.6228	0.9874	1.2217	1.4492
15	0.0000	0.0744	0.1459	0.2880	0.6114	0.9601	1.1994	1.4247
16	0.0000	0.0727	0.1401	0.2842	0.6216	0.9583	1.1994	1.4241
17	0.0000	0.0755	0.1454	0.2950	0.6290	0.9650	1.2042	1.4334
18	0.0000	0.0726	0.1484	0.3111	0.6276	0.9698	1.2120	1.4377
19	0.0000	0.0741	0.1520	0.3161	0.6290	0.9731	1.2131	1.4418
20	0.0000	0.0803	0.1639	0.3240	0.6252	0.9799	1.2157	1.4526
21	0.0000	0.0715	0.1488	0.3185	0.6316	0.9759	1.2106	1.4484
22	0.0000	0.0771	0.1585	0.3337	0.6417	0.9763	1.2204	1.4552
23	0.0000	0.0862	0.1639	0.3051	0.6255	0.9574	1.1977	1.4272
24	0.0000	0.0720	0.1434	0.2930	0.6112	0.9464	1.1845	1.4189
25	0.0000	0.0723	0.1439	0.2980	0.6232	0.9536	1.1885	1.4311
26	0.0000	0.0764	0.1529	0.3034	0.6236	0.9573	1.1970	1.4381
平均		0.0741	0.1462	0.2970	0.6120	0.9582	1.1995	1.4362
SD		0.0039	0.0092	0.0187	0.0163	0.0152	0.0139	0.0175
CV(%)		5.30	6.27	6.28	2.67	1.58	1.16	1.22

表 4

いずれの領域でも、各エタノール濃度に対して変動係数（CV：coefficient of variation）は1.2%～6.3%と良好であった。また、いずれの領域でも同量の共鳴角のシフトを示した。

以上の結果から、角度を有する回折格子面でも角度を有さない回折格子面と同等の計測精度を持つことが分かった。

（実施例3）

実施例2で取得した計測データのうち、入射光の入射角が21.5°であった際の測定データを選択し、その測定データの中でエタノール濃度が0%、2.5%、5%、10%、20%、30%、40%、50%であるエタノール水溶液それぞれを試料としたときの、反射光強度が最小となる領域の角度を算出した。具体的には、それぞれの領域が有する角度（表3）と、その領域における反射光強度とを用いて、反射光強度が最小となる角度を、回帰計算によって求めた。

この結果判明した、エタノール水溶液のエタノール濃度と、反射光強度が最小となる領域の角度、つまり共鳴角のシフト量との関係を図43に示す。

一般的に行われている方法、即ち、角度スキャンを行う方法で得られる共鳴角から、エタノール水溶液のエタノール濃度と、領域No. 7及び領域No. 15の回折格子面における共鳴角のシフト量との関係を調べた。この結果を図44に示す。

図43と図44とを比較した結果を表5に示す。

5

エタノール濃度	最小反射光強度を示す回折格子面		領域No.7		領域No.15	
	角度	シフト量	共鳴角	シフト量	共鳴角	シフト量
0%	-0.723	0.000	21.572	0.000	20.954	0.000
2.50%	-0.622	0.101	21.644	0.072	21.029	0.075
5%	-0.539	0.184	21.712	0.140	21.100	0.146
10%	-0.382	0.341	21.860	0.288	21.242	0.288
20%	-0.032	0.690	22.167	0.595	21.565	0.611
30%	0.331	1.053	22.521	0.949	21.914	0.960
40%	0.533	1.256	22.749	1.177	22.153	1.199
50%	0.742	1.465			22.379	1.425

表 5

比較の結果、図 4 3 と図 4 4 とが各エタノール濃度に対して同様のシフト量を示していることが判明した。したがって、一般的に行われてきた方法の結果（図 4 4）判明する共鳴角のシフト量が、本発明による回折格子面を保有するセンサチップを用いたことにより、入射光の入射角が一定の測定法で、最小反射強度を与える回折格子面が示す共鳴角の変化という形で得られる事が分かった。

15 （実施例 4）

実施例 2 で取得した計測データのうち、入射光の入射角が 21.5° の場合及び入射角が 21.0° の場合のデータについて解析した。

入射光の入射角が 21.5° の場合では、領域 No. 2, 7, 10, 16, 19 の反射光強度とエタノール濃度との関係を解析した。その結果を図 4 5 及び表 6 に示す。また、入射光の入射角が 21.0° の場合では、領域 No. 10, 13, 18, 20, 22 の反射光強度とエタノール濃度との関係を解析した。その結果を図 4 6 及び表 7 に示す。

入射角 21.5 度

エタノール濃度	回折格子面 領域				
	No.2	No.7	No.10	No.16	No.19
0%	1278.07				
2.50%	1461.97	1101.32			
5%	1648.93	1223.44			
10%	2026.36	1590.83	1039.49		
20%	2541.48	2314.61	1580.55	1015.67	
30%	2789.89	2707.64	2369.13	1593.10	1078.98
40%		2825.09	2644.40	2158.68	1592.99
50%			2767.90	2484.18	2068.05

表 6

入射角 21.0 度

エタノール濃度	回折格子面 領域				
	No.10	No.13	No.18	No.20	No.22
0%	1353.38				
2.50%	1543.41	1049.68			
5%	1736.37	1157.24			
10%	2106.79	1517.15	1048.67		
20%	2607.09	2254.11	1735.63	1038.87	
30%	2839.95	2649.93	2403.10	1782.15	940.39
40%		2763.74	2624.11	2213.10	1279.24
50%			2738.40	2456.48	1790.14

表 7

図 4 5 から、入射光の入射角が 21.5° の場合は、エタノール濃度が 0%～10% の範囲は領域 No. 2 の反射光強度を、エタノール濃度が 10%～30% の範囲は領域 No. 10 の反射光強度を、エタノール濃度が 30%～50% の範囲は領域 No. 19 の反射光強度をそれぞれ用いることで、入射光の入射角が一定であっても広範囲なエタノール濃度域に対して計測が可能になることが確認された。

同様に、図 4 6 から、入射光の入射角が 21.0° の場合は、エタノール濃度が 0%～10% の範囲は領域 No. 10 の反射光強度を、エタ

ノール濃度が 10 % ~ 30 % の範囲は領域 No. 18 の反射光強度を、エタノール濃度が 30 % ~ 50 % の範囲は領域 No. 22 の反射光強度をそれぞれ用いることで、入射光の入射角が一定であっても広範囲なエタノール濃度域に対して計測が可能になることが確認された。

- 5 したがって、従来の角度スキャンを行いながら反射光強度を測定する方法に比べ、入射光の入射角を一定にし、角度スキャンを行わない簡便な計測法でも広範囲な測定が可能であることが分かった。

(実施例 5)

10 平板状のポリカーボネート製の基体の表面に、溝ピッチ約 870 nm , 溝深さ約 40 nm の凹凸形状を形成し、この凹凸形状を回折格子とした。

さらに、この基体を、図 47 に示すように、回折格子と直交する方向の断面が、曲率半径が約 1150 mm の曲面となり、且つ、回折格子が基体の凸側の面にくるように加工した。次いで、この基体の表面に厚さ
15 約 80 nm で金を蒸着して、センサチップを作成した。

このセンサチップを用いて、共鳴角検出型の SPR 測定装置 FLEX CHIPSTM Kinetic Analysis System (HTS Biosystems Inc.) で角度スキャンを行いながら反射光の強度を測定した。測定には波長約 870 nm の光を入射光に用い、試料は精製水を用いた。

- 20 センサチップ表面の、回折格子に直交する方向に約 0.33 mm 間隔の領域における反射光の共鳴角を検出した結果を表 8 に示す。

	曲面域A		曲面域B	
	共鳴角	差	共鳴角	差
5	20.6269		20.6369	
	20.6302	0.0033	20.6400	0.0032
	20.6376	0.0074	20.6481	0.0080
	20.6467	0.0091	20.6514	0.0033
	20.6520	0.0053	20.6659	0.0145
	20.6585	0.0065	20.6695	0.0037
	20.6852	0.0267	20.6892	0.0197
	20.6887	0.0035	20.6966	0.0074
	20.6998	0.0111	20.7020	0.0054
	20.7082	0.0085	20.7074	0.0054
	20.7204	0.0122	20.7158	0.0084
	20.7255	0.0051	20.7262	0.0103
	20.7334	0.0078	20.7348	0.0086
	20.7562	0.0229	20.7408	0.0060
	20.7600	0.0038	20.7626	0.0218
10	20.7736	0.0135	20.7720	0.0095
	20.7878	0.0143	20.7823	0.0103
	20.8013	0.0135	20.8006	0.0183
	平均	0.0103		0.0096

表 8

15 各領域間の接面の角度差の合計が 0.17° となり、本来両端部の接面がなすべき角度である 0.3° よりも小さいため、曲率半径が設計よりも大きくなるよう形成されていたことが推定される。

しかし、 0.33 mm 間隔の隣あう領域間の角度は平均 0.010° と非常に小さい値に制御されており、曲面を形成した構造であってもセンサチップ表面に回折格子面を形成することができることが確認できた。

(実施例 9)

平板状のポリカーボネート製の基体の表面に凹凸形状を形成し、この凹凸形状を回折格子とし、さらに基体の表面に厚さ 80 nm で金を蒸着して、センサチップを作成した。

このセンサチップには、それぞれ溝方向に 2.5 mm ずつ溝ピッチ（

TP) が 846 nm, 856 nm, 870 nm, 876 nm の回折格子が形成された領域を設けた。このセンサチップを用いて、入射光の角度を $19.89^{\circ} \sim 21.18^{\circ}$ で変化させながら、SPR 測定装置 FLEX CHIPSTTM Kinetic Analysis System (HTS Biosystems Inc.) を
5 使って反射光の強度を計測した。試料としては純水及び 1 % エタノール水溶液及び 10 % エタノール水溶液及び 30 % エタノール水溶液を用い、これらを順にセンサチップ表面に導入して計測を行った。なお、計測時の水温は 30℃、入射光の波長は 870 nm であった。

溝ピッチ (TP) が 846 nm, 856 nm, 870 nm, 876 nm の領域における計測結果を図 48 のグラフに示す。横軸は測定からの経過時間であり、縦軸は共鳴角度である。
10

時間 0 秒から約 1200 秒までが純水、約 1200 秒から 1400 秒までが 1 % エタノール水溶液、約 1400 秒から約 1720 秒までは 10 % エタノール水溶液、約 1720 秒から約 2140 秒までは 30 % エ
15 タノール水溶液、約 2140 秒以降は純水のデータをそれぞれ表わしている。

溝ピッチが 870 nm のグラフを観ると、1 % エタノール溶液の共鳴角度及び 10 % エタノール溶液の共鳴角度の、純水の共鳴角度に対する変化量を測定することができる。しかし、30 % エタノール水溶液のグ
20 ラフは計測レンジの外に出ているため、溝ピッチが 870 nm のグラフからは 30 % エタノール水溶液の変化量を測定することができない。

ところが、溝ピッチが 856 nm のグラフを観てみると、10 % エタノール水溶液及び 30 % エタノール水溶液のデータが計測されている。したがって、溝ピークが 856 nm のグラフから、30 % エタノール水
25 溶液の 10 % エタノール水溶液に対する反射光の強度変化量を用いて補正を行うことで、30 % エタノール水溶液の純水に対する反射光の強度

変化量を測定することができる。即ち、30%エタノール水溶液の10%エタノール水溶液に対する反射光の強度変化量と、10%エタノール水溶液の純水に対する反射光の強度変化量との和を算出することで、30%エタノール水溶液の純水に対する反射光の強度変化量を測定することができるのである。

こうして測定された各濃度のエタノール水溶液の、純水に対する反射光強度の変化量を表9に示す。

10	エタノール濃度	純水に対する共鳴角の変化量
	1%	33mdeg
	10%	362mdeg
15	30%	1143mdeg (10%エタノール水溶液の純水に対する共鳴角の変化量362mdeg+30%エタノール水溶液の10%EtOHに対する共鳴角の変化量781mdeg)

表 9

表9のデータをグラフとし、図49に示した。図49から、エタノール濃度と純水に対する試料の反射光強度の変化量との線形性が確認できる。

以上のことから、溝ピッチの異なる回折格子を形成された領域を設けたセンサチップを用いることによって、入射光の入射角度を大きく変化させなくても従来よりも広い計測レンジの反射光強度を計測でき、時間分解能の優れた分析を行うことができることが確認できた。

(実施例10)

実施例1と同様に、それぞれ溝方向に直交する方向に2.5mmずつ

溝ピッチ (TP) が 846 nm, 856 nm, 870 nm, 876 nm
 の領域を設けたセンサチップを用いて、試料に入射角度を固定した光を
 照射したときの反射光強度を計測した。計測には SPR 測定装置 FLEX
 CHIPS™ Kinetic Analysis System を用いて行い、試料は純水と 10
 5 %エタノール水溶液を用いた。また、計測時の温度は 30℃、入射光の
 波長は 875 nm、入射光の入射角度は 20.8502° であった。

結果を図 50 (a) のグラフに示す。

この結果から、6 次の多項式を用いて純水及び 10 %エタノール水溶
 液の共鳴が生じた回折格子の溝ピッチを求めた。多項式を用いた近似の
 10 手法を図 50 (b) に示し、その結果を表 10 に示す。

エタノール濃度	溝ピッチ	純水に対する溝ピッチの変化量
0% (純水)	871.72nm	0nm
10%	863.30nm	8.42nm

表 10

15

表 10 から、純水のグラフと 10 %エタノール水溶液のグラフとは、
 反射光の強度が極少となる溝ピッチが異なっていることが分かった。こ
 の溝ピッチの差、即ち、溝ピッチの変化量によって、試料の分析を行う
 ことができる。

20 以上のことから、本発明のセンサチップを用いることにより、入射光
 の入射角度を固定した状態でも SPR センサチップにより分析を行うこ
 とができることが確認できた。

なお、今回は溝ピッチの異なる領域を 4 種類だけ用いたが、さらに多
 種の溝ピッチを有する領域を用いることで、さらに精密な分析が可能と
 25 なると思われる。

産業上の利用可能性

以上のように、本発明の表面プラズモン共鳴センサチップは、小型臨床機器やHPLC用検出器に用いて好適である。近年、特に臨床検査の分野では治療の現場での検査を可能にする小型・簡便操作を特徴とする

- 5 POCが重視されており、表面プラズモン共鳴センサチップも免疫検査などに適用が考えられているため、本発明の表面プラズモン共鳴センサチップを用いれば、サイズもコストも抑えた分析装置を提供することができるのでPOCに適用可能なだけでなく、在宅検査などの領域にも適用することができる。さらには、本発明の表面プラズモン共鳴センサチップは、HPLC（高速液体クロマトグラフィー）にも好適であり、血液や尿の分析や食品中の栄養分の分析、或いは排水中の化学物質の分析等にも応用することができる。
- 10

15

20

25

請求の範囲

1. 光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起しうる金属層 (3) と、

- 5 上記金属層 (3) の近傍に設けられ、光の照射によりエバネッセント波を生じさせる回折格子が一定の溝方向及び溝ピッチで形成された複数の回折格子面 (5 a ~ 5 i, 2 5 1 ~ 2 5 4) とを備え、

10 上記各回折格子面 (5 a ~ 5 i, 2 5 1 ~ 2 5 4) は、所定の投影平面上における溝方向が同一で溝ピッチが互いに異なるように、回折格子の溝ピッチ ($d_1 \sim d_4$) 及び溝方向並びに所定の基準平面 (S_0) に対する配置角度 ($\alpha_a \sim \alpha_i$) を設定されていることを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサチップ。

15 2. 上記各回折格子面 (5 a ~ 5 i) は、所定の基準平面 (S_0) に垂直な特定平面 (S_1) に対して垂直で且つ上記基準平面 (S_0) に対してそれぞれ所定の傾斜角度 ($\alpha_a \sim \alpha_i$) をなして配置されるとともに、それぞれ上記特定平面 (S_1) に垂直な溝方向で上記回折格子が形成されていることを特徴とする、請求の範囲第 1 項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

20 3. 上記回折格子面 (5 a ~ 5 i) が上記特定平面 (S_1) に平行な方向に複数配置され、各回折格子面 (5 a ~ 5 i) は上記特定平面 (S_1) に平行な一方向から見たときの上記基準平面 (S_0) に対する傾斜角度 ($\alpha_a \sim \alpha_i$) が次第に小さくなるように順に配置されていることを特徴とする、請求の範囲第 2 項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

25 4. 上記回折格子面 (5 a ~ 5 i) は、光が照射される側に凸の山状に連続して配置されていることを特徴とする、請求の範囲第 2 項又は項 3

記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

5. 上記回折格子面（25）は一つの溝のみを有する最小幅に形成され、上記回折格子面（25）の集合により光が照射される側に凸の弧状の曲面が構成されている

5 ことを特徴とする、請求の範囲第4項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

6. 上記各回折格子面（5a～5i）は試料と接するセンサ面（1a）に沿って形成され、上記センサ面（1a）には試料中の検出種と特異的に結合する結合物質（7）が上記各回折格子面（5a～5i）毎に固定
10 化されていることを特徴とする、請求の範囲第2項～第5項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

7. 上記結合物質（7）が上記回折格子面（5a～5i）毎に複数種固定化されていることを特徴とする、請求の範囲第6項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

15 8. 上記回折格子面（5a～5i）が集約して配置される回折領域（6）が複数設けられ、各回折領域（6）には異なる傾斜角度の回折格子面（5a～5i）が複数配置されていることを特徴とする、請求の範囲第2項～第7項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

9. 上記各回折格子面（5a～5i）は試料と接するセンサ面（1a）
20 に沿って設けられ、上記センサ面（1a）に試料中の検出種と特異的に結合する結合物質（7）が上記各回折領域（6）に対応して複数種固定化されていることを特徴とする、請求の範囲第8項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

10. 上記センサ面には、回折格子が形成されていない非回折面（37
25 a～37i）が上記各回折格子面（35a～35i）と同一平面上に設けられていることを特徴とする、請求の範囲第6項～第9項の何れかの

項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

1 1. 上記回折格子面毎に、上記結合物質（４７）が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質（４８）が固定化されるか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とが設けられていることを特徴とする、請求の範囲第６項～第９項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

1 2. 上記回折格子面が溝方向に垂直な方向に並んで配置されると共に、上記センサ面（１ａ）を覆う蓋（７２）を備え、上記センサ面と上記蓋（７２）との間には、上記回折格子面の配置方向に向けて複数の流路（７０）が並列して形成されていることを特徴とする、請求の範囲第６項～第９項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

1 3. 上記各回折領域（８７）に対応して、上記回折格子が形成されていない非回折面が集約した非回折領域（８８）が設けられていて、

上記非回折領域（８８）を構成する各非回折面は、対応する回折領域（８７）を構成する各回折格子面の上記基準平面に対する傾斜角度の分布と同一の、上記基準平面に対する傾斜角度の分布を有することを特徴とする、請求の範囲第８項又は第９項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

1 4. 上記各回折領域（９６）のうちの一部に、試料中の検出種と特異的に結合する結合物質（９７）が固定化された反応領域が設けられていて、

他の回折領域（９６）には、試料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質（９８）が固定化されるか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域が設けられていることを特徴とする、請求の範囲第８項又は第９項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

1 5. 上記センサ面（１ａ）を覆う蓋（１０２）を備え、上記

センサ面と上記蓋（１０２）との間に複数の流路（１００）を並列して形成され、

上記各流路（１００）毎に、上記回折領域（６）が設けられていることを特徴とする、請求の範囲第８項又は第９項に記載の表面プラズモン

５ 共鳴センサチップ。

１６．請求の範囲第６項～第９項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面（１ａ）に試料を接触させて、上記特定平面（Ｓ１）に
１０ 平行に一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面（１ａ）からの反射光を受光して、上記各回折格子面（５ａ～５ｉ）からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（５ａ～５ｉ）からの反射光の強度と上記各回折格子面（５ａ～５ｉ）の上記基準平面（Ｓ０）に対する傾斜角
１５ 度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を算出するステップと、

算出された共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴する、分析方法。

１７．請求の範囲第１０項又は第１３項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、
２０

上記センサ面に試料を接触させて、上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（３５ａ～
２５ ３５ｉ）からの反射光の強度を計測するステップと、

上記非回折面（３７ａ～３７ｉ）からの反射光の強度を考慮して、上

記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）からの反射光の強度を補正するステップと、

補正された上記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）からの反射光の強度と上記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）の上記基準平面に対する傾斜角度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を算出するステップと、

算出された共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

１８．請求の範囲第１１項又は第１４項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いての試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面に試料を接触させて、上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面からの反射光の強度と上記各回折格子面の上記基準平面に対する傾斜角度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を上記反応領域及び非反応領域のそれぞれについて算出するステップと、

算出された上記各反応領域における共鳴角度を、上記非反応領域における共鳴角度を考慮して補正した共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

１９．請求の範囲第１２項又は第１５項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

異なる複数の試料を上記複数の流路（70）に割り当て、上記各流路（70）に割り当てられた試料を流しながら上記特定平面に平行に一定の入射角度で上記センサ面に光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面からの反射光の強度と上記回折格子面の上記基準平面に対する傾斜角度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている共鳴角度を、上記各流路（70）を流れる試料毎に算出するステップと、

10 上記流路（70）毎に算出された共鳴角度に基づき、上記各流路（70）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

20 請求の範囲第6項～第9項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

15 上記センサ面（1a）に試料を接触させて、上記特定平面（S1）に平行に一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面（1a）からの反射光を受光して、上記各回折格子面（5a～5i）からの反射光の強度を計測するステップと、

20 計測された上記各回折格子面（5a～5i）からの反射光の強度の、上記センサ面（S1）に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップと、

測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（5a～5i）を選定し、上記選定された回折格子面（5a～5i）からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

25 ）からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

2 1. 請求の範囲第 10 項又は第 13 項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面に試料を接触させて、上記特定平面に平行に一定の入射
5 角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（35a～35i）からの反射光の強度を計測するステップと、

上記非回折面（37a～37i）からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面（35a～35i）からの反射光の強度を補正するステップと、
10

補正された上記各回折格子面（35a～35i）からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップと、

測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（35a～35i）を選定し、上記選定された回折格子面（35a～35i）からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。
15

2 2. 請求の範囲第 11 項又は第 14 項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、
20

上記センサ面に試料を接触させて、上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップと、
25

計測された上記各回折格子面からの反射光の強度の、上記センサ面に

試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定するステップと、

測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、上記選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と上記選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

23. 請求の範囲第12項又は第15項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

異なる複数の試料を上記複数の流路（70）に割り当て、上記各流路（70）に割り当てられた試料を流しながら上記特定平面に平行に一定の入射角度で上記センサ面に光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面からの反射光の強度の、上記各流路（70）に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップと、

計測された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面を上記流路（70）毎に選定し、上記流路（70）毎に選定された回折格子面からの反射光の強度の変化量に基づき、上記各流路（70）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

24. 上記表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離ステップを備えたことを特徴とする、請求の範囲第16項～第23項の何

れかの項に記載の分析方法。

25 試料分離ステップでは、液体クロマトグラフィー、HPLC (high performance liquid chromatography)、キャピラリー電気泳動、マイクロチップ電気泳動、フローインジェクション或いはマイクロチャンネルを用いた分離方法のいずれかの手法により試料を分離することを特徴とする、請求の範囲第24項記載の分析方法。

26 上記検出種は発光物質であり、上記センサ面に光を照射するに先立ち、或いは、上記センサ面に光を照射して反射光を受光した後、上記結合物質に結合した上記発光物質の発光光を検出するステップを備え、
10 上記分析ステップでは、上記発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うことを特徴とする、請求の範囲第16項～第25項の何れかの項に記載の分析方法。

27 請求の範囲第6項～第9項の何れかの項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う
15 分析装置であって、

上記センサ面に試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段(11)と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段(11)により保持された状態において、上記センサ面(1a)に向けて上記特定平面
20 (S1)に平行に一定の入射角度で光を照射する光照射手段(12)と、

上記センサ面(1a)からの反射光を受光する受光手段(13)と、

上記受光手段(13)により受光した上記各回折格子面(1a)からの反射光の強度を計測する計測手段(13)と、

25 上記計測手段(13)により計測された上記各回折格子面(1a)からの反射光の強度と上記各回折格子面(1a)の上記基準平面(S0)

に対する傾斜角度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を算出する算出手段（１４）と、

上記算出手段（１４）により算出された共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段とを備えたことを特徴とする、分析装置。

５

２８．請求の範囲第１０項又は第１３項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記センサ面に試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（１１）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（１１）により保持された状態において、上記センサ面に向けて上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射する光照射手段（１２）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（１３）と、

１５ 上記受光手段（１３）により受光した上記各回折格子面からの反射光の強度を計測する計測手段（１３）と、

上記非回折面（３７ａ～３７ｉ）からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）からの反射光の強度を補正する補正手段（１４）と、

２０ 上記補正手段（１４）により補正された上記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）からの反射光の強度と上記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）の上記基準平面に対する傾斜角度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を算出する算出手段（１４）と、

２５ 上記算出手段（１４）により算出された共鳴角度に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段とを備えたことを特徴とする、分析装置。

る、分析装置。

29. 請求の範囲第11項又は第14項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

- 5 上記センサ面に試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段(11)と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段(11)により保持された状態において、上記センサ面に向けて上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射する光照射手段(12)と、

- 10 上記センサ面からの反射光を受光する受光手段(13)と、

上記受光手段(13)により受光した上記各回折格子面からの反射光の強度を計測する計測手段(13)と、

上記計測手段(13)により計測された上記各回折格子面からの反射光の強度と上記各回折格子面の上記基準平面に対する傾斜角度とに基づ

- 15 き、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を上記反応領域及び非反応領域のそれぞれについて算出する算出手段(14)と、

上記算出手段(14)により算出された上記各反応領域における共鳴角度を、上記非反応領域における共鳴角度を考慮して補正した共鳴角度

- 20 に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段(14)とを備えたことを特徴とする、分析装置。

30. 請求の範囲第12項又は第15項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

- 25 上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段(11)と

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（１１）により保持された状態において、異なる複数の試料を上記複数の流路（７０）に割り当て、上記各流路（７０）に割り当てられた試料を導入する試料導入手段（７９）と、

- ５ 上記試料導入手段（７９）により上記各流路（７０）に試料が導入された状態において、上記センサ面に向けて上記特定平面に平行に一定の入射角度で上記センサ面に光を照射する光照射手段（１２）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（１３）と、

- 10 上記受光手段（１３）により受光した上記各回折格子面からの反射光の強度を計測する計測手段（１３）と、

上記計測手段（１３）により計測された上記各回折格子面からの反射光の強度と上記各回折格子面の上記基準平面に対する傾斜角度とに基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じる共鳴角度を上記流路（７０）毎について算出する算出手段（１４）と

- 15 、

上記算出手段（１４）により算出された共鳴角度に基づき、上記各流路（７０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（１４）とを備えたことを特徴とする、分析方法。

31. 請求の範囲第６項～第９項の何れかの項に記載の表面プラズモン
20 共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記センサ面に試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（１１）と、

- 25 上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（１１）により保持された状態において、上記センサ面に向けて上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射する光照射手段（１２）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（１３）と、

上記受光手段（１３）により受光した上記各回折格子面（５a～５i）からの反射光の強度を計測する計測手段（１３）と、

上記計測手段（１３）により計測された上記各回折格子面（５a～５i）からの反射光の強度の、上記センサ面（１a）に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する測定手段（１４）と、

上記測定手段（１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（５a～５i）を選定し、上記選定された回折格子面（５a～５i）からの反射光強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段とを備えたことを特徴とする、分析装置。

３２．請求の範囲第１０項又は第１３項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって

上記センサ面に試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（１１）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（１１）により保持された状態において、上記センサ面に向けて上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射する光照射手段（１２）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（１３）と、

上記受光手段（１３）により受光した上記各回折格子面からの反射光の強度を計測する計測手段（１３）と、

上記非回折面（３７a～３７i）からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面（３５a～３５i）からの反射光の強度を補正する補正手段（１４）と、

上記補正手段（１４）により補正された上記各回折格子面（３５ａ～３５ｉ）からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する測定手段（１４）と、
上記測定手段（１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の
5 測定許容範囲内にある回折格子面（３５ａ～３５ｉ）を選定し、上記選定された回折格子面（３５ａ～３５ｉ）からの反射光強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（１４）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

３３．請求の範囲第１１項又は第１４項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、
10

上記センサ面に試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（１１）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（１１）により
15 保持された状態において、上記センサ面に向けて上記特定平面に平行に一定の入射角度で光を照射する光照射手段（１２）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（１３）と、

上記受光手段（１３）により受光した上記各回折格子面からの反射光の強度を計測する計測手段（１３）と、

20 上記計測手段（１３）により計測された上記各回折格子面からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定する測定手段（１４）と、

上記測定手段（１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の
25 測定許容範囲内にある回折格子面を選定し、上記選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と上記選定された非反応領域からの反射光の

強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（１４）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

３４．請求の範囲第１２項又は第１５項に記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装

５ 置であって、

上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（１１）と

、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（１１）により保持された状態において、異なる複数の試料を上記複数の流路（７０）

10 に割り当て、上記各流路（７０）に割り当てられた試料を導入する試料導入手段（７９）と、

上記試料導入手段（７９）により上記各流路（７０）に試料が導入された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（１２）と、

15 上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（１３）と、

上記受光手段（１３）により受光した上記各回折格子面からの反射光の強度の、上記各流路（７０）に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する測定手段（１４）と、

上記測定手段（１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の
20 測定許容範囲内にある回折格子面を上記流路（７０）毎に選定し、上記流路（７０）毎に選定された回折格子面からの反射光の強度の変化量に基づき、上記各流路（７０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（１４）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

３５．上記表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立
25 ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離手段（５９）を備えたことを特徴とする、請求の範囲第２７項～第３４項

の何れかの項に記載の分析装置。

36. 上記試料分離手段(59)は、液体クロマトグラフィー、HPLC (high performance liquid chromatography)、キャピラリー電気泳動、マイクロチップ電気泳動、フローインジェクション或いはマイクロ
5 チャンネルを用いた分離方法の何れかの手法により試料を分離することを特徴とする、請求の範囲第35記載の分析装置。

37. 上記検出種は発光物質であり、上記受光手段(13)は上記結合物質に結合した上記発光物質の発光光も検出可能に構成され、

上記分析手段(14)は、上記受光手段(13)による上記発光光の
10 検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うように構成されていることを特徴とする、請求の範囲第27項～第36項の何れかの項に記載の分析装置。

38. 上記各回折格子面(251～254)は所定の基準平面に平行に設けられ、上記各回折格子面(251～254)には同一の溝方向で且
15 つ互いに異なる溝ピッチ(d1～d4)で回折格子(205)が形成されていることを特徴とする、請求の範囲第1項の表面プラズモン共鳴センサチップ。

39. 上記各回折格子面(251～254)は試料と接するセンサ面(201a)に沿って形成され、上記センサ面(201a)には試料中の
20 検出種と特異的に結合する結合物質(206)が上記回折格子面(251～254)毎に固定化されていることを特徴とする、請求の範囲第38項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

40. 上記結合物質(206, 207)が上記回折格子面(251～254)毎に複数種固定化されていることを特徴とする、請求の範囲第3
25 9項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

41. 上記センサ面(261a)には、回折格子が形成されていない非

回折面（２５１ｘ～２５４ｘ）が上記各回折格子面（２５１～２５４）と同一平面上に設けられていることを特徴とする請求の範囲第４９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

４２．上記回折格子面（２５１～２５４）毎に、上記結合物質（２０６）が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質（２９１）が固定化されるか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とが設けられていることを特徴とする請求の範囲第３９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

４３．上記回折格子面（２５１～２５４）が溝方向に垂直な方向に並んで配置されるとともに、上記センサ面（２８１ａ）を覆う蓋（２８６）を備え、上記センサ面（２８１ａ）と上記蓋（２８６）との間には、上記回折格子面（２８１ａ）の配置方向に向けて複数の流路（２８０）が並列して形成されていることを特徴とする請求の範囲第３９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

４４．上記回折格子面（２５１～２５４）が溝方向に垂直な方向に並んで配置されるとともに、上記センサ面（２８１ａ）を覆う蓋（２８６）を備え、上記センサ面（２８１ａ）と上記蓋（２８６）との間には、上記回折格子面（２５１～２５４）の配置方向に向けて複数の流路（２８０）が並列して形成されていて、

上記各流路（２８０）には、上記回折格子面（２５１～２５４）毎に、上記結合物質（２０６）が固定化された反応領域と、試料中の検出種と特異的な結合をおこさない物質（２９１）が固定化されるか、或いは何ら物質が固定化されていない非反応領域とが設けられていることを特徴とする、請求の範囲第３９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴センサチップ。

４５．請求の範囲第３９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴セン

サチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面（201a）に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップと、

- 5 上記センサ面（201a）からの反射光を受光して、上記各回折格子面からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（201a）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定するステップと、

- 10 上記特定された溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

46. 請求の範囲第41項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

- 15 上記センサ面に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度を計測するステップと、

上記非回折面（251x～254x）からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度を補正する

- 20 ステップと、

補正された上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定するステップと、

- 25 上記特定された溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

47. 請求の範囲第42項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを

用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（２５１～
5 ２５４）からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを上記反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定するステップと、

10 上記特定された反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

４８．請求の範囲第４３項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

15 異なる複数の試料を上記複数の流路（２８０）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度で上記センサ面に光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（２５１～
２５４）からの反射光の強度を計測するステップと、

20 計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを上記流路（２８０）毎に特定するステップと、

上記流路（２８０）毎に特定された溝ピッチに基づき、上記各流路（
２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップ
25 とを備えたことを特徴とする、分析方法。

４９．請求の範囲第４４項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用

いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

異なる複数の試料を上記複数の流路（２８０）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度で上記センサ面に光を照射するステップと、

- 5 上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを上記流路（２８０）毎に反応領域及び非反応領域

- 10 域のそれぞれについて特定するステップと、

上記流路（２８０）毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定された溝ピッチに基づき、上記各流路（２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

- 15 ５０．請求の範囲第３９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面（２０１ａ）に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップと、

- 20 上記センサ面（２０１ａ）からの反射光を受光して、上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の、上記センサ面（２０１ａ）に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップと、

- 25 測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を選定し、上記選定された回折格子面（２５１

～ 2 5 4) からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

5 1. 請求の範囲第 4 1 項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップと、

上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面 (2 5 1 ～ 2 5 4) からの反射光の強度を計測するステップと、

10 上記非回折面 (2 5 1 x ～ 2 5 4 x) からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面 (2 5 1 ～ 2 5 4) からの反射光の強度を補正するステップと、

補正された上記各回折格子面 (2 5 1 ～ 2 5 4) からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップと、

測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面 (2 5 1 ～ 2 5 4) を選定し、上記選定された回折格子面からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

20 5 2. 請求の範囲第 4 2 項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

上記センサ面に試料を接触させて、一定の入射角度で光を照射するステップと、

25 上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面 (2 5 1 ～ 2 5 4) からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面 (2 5 1 ～ 2 5 4) からの反射光の強度

の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定するステップと、

測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、上記選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と上記選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

10 ５３．請求の範囲第４３項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

異なる複数の試料を上記複数の流路（２８０）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度で上記センサ面に光を照射するステップと、

15 上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の、上記各流路（２８０）に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定するステップと、

20 測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を上記流路（２８０）毎に選定し、上記流路（２８０）毎に選定された回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の変化量に基づき、上記各流路（２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分
25 析方法。

５４．請求の範囲第４４項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用

いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う方法であって、

異なる複数の試料を上記複数の流路（２８０）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を流しながら一定の入射角度で上記センサ面に光を照射するステップと、

- ５ 上記センサ面からの反射光を受光して、上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測するステップと、

計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の、上記各流路（２８０）に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定する

- １０ ステップと、

測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を上記流路（２８０）毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、上記選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と上記選定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、上記各流路（２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うステップとを備えたことを特徴とする、分析方法。

- ５５． 上記表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離ステップを備えたことを特徴とする、請求の範囲第４５項～第５４項の何
２０ れかの項に記載の分析方法。

- ５６． 試料分離ステップでは、液体クロマトグラフィー、ＨＰＬＣ（high performance liquid chromatography）、キャピラリー電気泳動、マイクロチップ電気泳動、フローインジェクション或いはマイクロチャネルを用いた分離方法のいずれかの手法により試料を分離することを特
２５ 徴とする、請求の範囲第５５項記載の分析方法。

５７． 上記検出種は発光物質であり、上記センサ面に光を照射するに先

立ち、或いは、上記センサ面に光を照射して反射光を受光した後、上記結合物質に結合した上記発光物質の発光光を検出するステップを備え、

上記分析ステップでは、上記発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うことを特徴とする、請求の範囲

5 第45項～第56項の何れかの項に記載の分析方法。

58. 請求の範囲第39項又は第40項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記センサ面（201a）に上記試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（211）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（211）により保持された状態において、上記センサ面（201a）に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（212）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（213）と、

15 上記受光手段（213）により受光した上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度を計測する計測手段（213）と、

上記計測手段（213）により計測された上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定し、上記特定された溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（214）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

20

59. 請求の範囲第41項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記センサ面に上記試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（211）と、

25 上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（211）によ

り保持された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（212）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（213）と、

上記受光手段（213）により受光した上記各回折格子面（251～
5 254）からの反射光の強度を計測する計測手段（213）と、

上記非回折面（251x～254x）からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度を補正する補正手段（214）と、

上記補正手段（214）により補正された上記各回折格子面（251
10 ～254）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを特定し、上記特定された溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（214）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

60. 請求の範囲第42項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用
15 いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記センサ面に上記試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（211）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（211）により保持された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を
20 照射する光照射手段（212）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（213）と、

上記受光手段（213）により受光した上記各回折格子面（251～
254）からの反射光の強度を計測する計測手段（213）と、

上記計測手段（213）で計測された上記各回折格子面（251～2
25 54）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを上記反応領域及び非

反応領域のそれぞれについて特定し、上記特定された反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピッチに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（２１４）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

- 5 6 1．請求の範囲第４３項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

 上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（２１１）と、

- 上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（２１１）により保持された状態において、異なる複数の試料を上記複数の流路（２８
10 ０）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を導入する試料導入手段（２８２）と、

- 上記試料導入手段（２８２）により上記各流路（２８２）に試料が導入された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射
15 する光照射手段（２１２）と、

 上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（２１３）と、

 上記受光手段（２１３）により受光した上記各回折格子面（２５１～
25 ２５４）からの反射光の強度を計測する計測手段（２１３）と、

- 上記計測手段（２１３）により計測された上記各回折格子面（２５１
20 ～２５４）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを上記流路（２８
 ０）毎に特定し、上記流路（２８０）毎に特定された溝ピッチに基づき、上記各流路（２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段とを備えたことを特徴とする、分析装置。

- 25 6 2．請求の範囲第４４項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（２１１）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（２１１）により保持された状態において、異なる複数の試料を上記複数の流路（２８
５ ０）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を導入する試料導入手段（２８２）と、

上記試料導入手段（２８２）により上記各流路（２８０）に試料が導入された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（２１２）と、

10 上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（２１３）と、

上記受光手段（２１３）により受光した上記各回折格子面（２５１～
２５４）からの反射光の強度を計測する計測手段（２１３）と、

上記計測手段（２１３）により計測された上記各回折格子面（２５１～
２５４）からの反射光の強度に基づき、上記エバネッセント波と上記
15 表面プラズモン波との共鳴現象が生じている溝ピッチを上記流路（２８
０）毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて特定し、上記流路
（２８０）毎に特定された反応領域及び非反応領域のそれぞれの溝ピ
ッチに基づき、上記各流路（２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定
性的な分析を行う分析手段とを備えたことを特徴とする、分析装置。

20 ６３．請求の範囲第３９項又は第４０項記載の表面プラズモン共鳴セン
サチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置
であって、

上記センサ面（２０１ａ）に上記試料を接触させた状態で上記表面プラ
ズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（２１１）と、

25 上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（２１１）によ
り保持された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を

照射する光照射手段（２１２）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（２１３）と、

上記受光手段（２１３）により受光した上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測する計測手段（２１３）と、

- ５ 上記計測手段（２１３）により計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の、上記センサ面（２０１ａ）に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する測定手段（２１４）と、

- 上記測定手段（２１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を選定し、上記選定された回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（２１４）とを備えたことを特徴とする、分析方法。
- １０

- ６４．請求の範囲第４１項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、
- １５

上記センサ面に上記試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（２１１）と、

- 上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（２１１）により保持された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（２１２）と、
- ２０

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（２１３）と、

上記受光手段（２１３）により受光した上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測する計測手段（２１３）と、

- 上記非回折面（２５１ｘ～２５４ｘ）からの反射光の強度を考慮して、上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を補正する補正手段（２１４）と、
- ２５

上記補正手段（２１４）により補正された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する測定手段（２１４）と、

- ５ 上記測定手段（２１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を選定し、上記選定された回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の変化量に基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（２１４）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

- 10 ６５．請求の範囲第４２項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

 上記センサ面に上記試料を接触させた状態で上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（２１１）と、

- 上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（２１１）により保持された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（２１２）と、
- 15 上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（２１３）と、

 上記受光手段（２１３）により受光した上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度を計測する計測手段（２１３）と、

- 20 上記計測手段（２１３）により計測された上記各回折格子面（２５１～２５４）からの反射光の強度の、上記センサ面に試料が接触していない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定する測定手段（２１４）と、

- 測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、上記選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と上記選
- 25

定された非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（２１４）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

66. 請求の範囲第４３項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（２１１）と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（２１１）により保持された状態において、異なる複数の試料を上記複数の流路（２８
0）に割り当て、上記各流路（２８０）に割り当てられた試料を導入する試料導入手段（２８２）と、

上記試料導入手段（２８２）により上記各流路（２８０）に試料が導入された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（２１２）と、

15 上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（２１３）と、

上記受光手段（２１３）により受光した上記各回折格子面（２５１～
２５４）からの反射光の強度を計測する計測手段（２１３）と、

上記計測手段（２１３）により計測された上記各回折格子面（２５１～
２５４）からの反射光の強度の、上記各流路（２８０）に試料が流れ
20 ていない状態での反射光の強度に対する変化量を測定する測定手段（
２１４）と、

上記測定手段（２１４）により測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（２５１～２５４）を上記流路（
２８０）毎に選定し、上記流路（２８０）毎に選定された回折格子面（
25 ２５１～２５４）からの反射光の強度の変化量に基づき、上記各流路（
２８０）を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段と

を備えたことを特徴とする、分析装置。

67. 請求の範囲第44項記載の表面プラズモン共鳴センサチップを用いて試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析装置であって、

上記表面プラズモン共鳴センサチップを保持する保持手段（211）

5 と、

上記表面プラズモン共鳴センサチップが上記保持手段（211）により保持された状態において、異なる複数の試料を上記複数の流路（280）に割り当て、上記各流路（280）に割り当てられた試料を導入する試料導入手段（282）と、

10 上記試料導入手段（282）により上記各流路（280）に試料が導入された状態において、上記センサ面に向けて一定の方向から光を照射する光照射手段（212）と、

上記センサ面からの反射光を受光する受光手段（213）と、

15 上記受光手段（213）により受光した上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度を計測する計測手段（213）と、

上記計測手段（213）により計測された上記各回折格子面（251～254）からの反射光の強度の、上記各流路（213）に試料が流れていない状態での反射光の強度に対する変化量を反応領域及び非反応領域のそれぞれについて測定する測定手段（214）と、

20 上記測定手段（214）により測定された反射光強度の変化量が所定の測定許容範囲内にある回折格子面（251～254）を上記流路（280）毎に反応領域及び非反応領域のそれぞれについて選定し、上記流路（280）毎に選定された反応領域からの反射光の強度の変化量と非反応領域からの反射光の強度の変化量とに基づき、上記各流路（280）
25 を流れる試料の定量的及び／又は定性的な分析を行う分析手段（214）とを備えたことを特徴とする、分析装置。

68. 上記表面プラズモン共鳴センサチップ上に試料を導入するに先立ち、物理的及び／又は化学的な作用によって試料を分離する試料分離手段（292）を備えたことを特徴とする、請求の範囲第58項～第67項の何れかの項に記載の分析装置。

5 69. 上記試料分離手段（292）は、液体クロマトグラフィー、HPLC（high performance liquid chromatography）、キャピラリー電気泳動、マイクロチップ電気泳動、フローインジェクション或いはマイクロチャネルを用いた分離方法のいずれかの手法により試料を分離することを特徴とする、請求の範囲第68項記載の分析装置。

10 70. 上記検出種は発光物質であり、上記受光手段（213）は上記結合物質に結合した上記発光物質の発光光も検出可能に構成され、

上記分析手段（214）は、上記受光手段（213）による上記発光光の検出結果も併せて総合的に試料の定量的及び／又は定性的な分析を行うように構成されていることを特徴とする、請求の範囲第58項～第

15 69項の何れかの項に記載の分析装置。

71. 光の照射により表面に表面プラズモン波を誘起しうる金属層（23）と、

上記金属層（23）の近傍に形成され、光の照射によりエバネッセン
ト波を生じさせる回折格子が一定の溝方向及び溝ピッチで形成された回
20 折格子曲面（25）とを備え、

上記回折格子曲面（25）は光が照射される側に向けて凸の弧状の曲面形状を有し、所定の基準平面（S0）に垂直な特定平面（S1）に対し垂直に配置されるとともに、上記特定平面（S1）に垂直な溝方向で
上記回折格子が形成されていることを特徴とする、表面プラズモン共鳴
25 センサチップ。

72. 試料と接するセンサ面の近傍に金属層（233）と回折格子（2

3 5) とが設けられて、光の照射により上記金属層 (2 3 3) の表面に誘起される表面プラズモン波と上記回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じうる共鳴領域 (2 3 8 a ~ 2 3 8 d) が上記センサ面 (2 3 1 a) に形成された表面プラズモン共鳴センサチップにおいて、

上記共鳴領域 (2 3 8 a ~ 2 3 8 d) は上記センサ面 (2 3 1 a) に離散的に形成された複数の連続領域 (2 3 8 a ~ 2 3 8 d) からなり、上記複数の連続領域 (2 3 8 a ~ 2 3 8 d) のうち少なくとも一つの連続領域 (2 3 8 a ~ 2 3 8 d) は他の連続領域 (2 3 8 a ~ 2 3 8 d) とは上記回折格子の溝ピッチ及び溝方向のうち少なくとも一つの要素が相違していることを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサチップ。

7 3. 試料と接するセンサ面の近傍に金属層 (2 2 3) と回折格子 (2 2 5) とが設けられて、光の照射により上記金属層 (2 2 3) の表面に誘起される表面プラズモン波と上記回折格子の作用により生じるエバネッセント波との共鳴現象が生じうる共鳴領域が上記センサ面に形成された表面プラズモン共鳴センサチップにおいて、

上記共鳴領域は上記センサ面に連続的に形成され、上記回折格子 (2 2 5) の溝方向は一定で溝ピッチに連続的或いは不連続的な分布を有していることを特徴とする、表面プラズモン共鳴センサチップ。

20

25

図 1

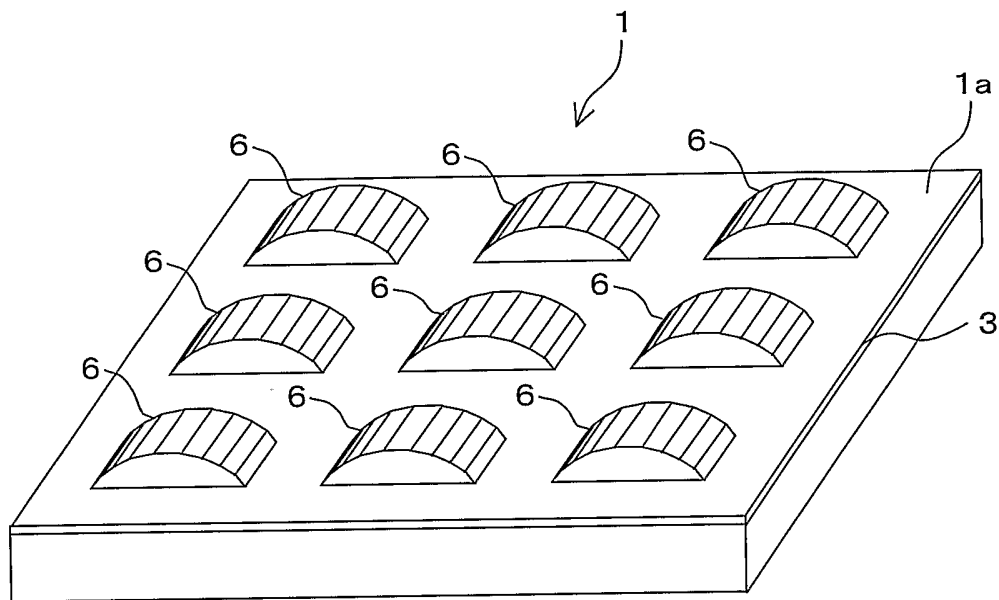


図 2

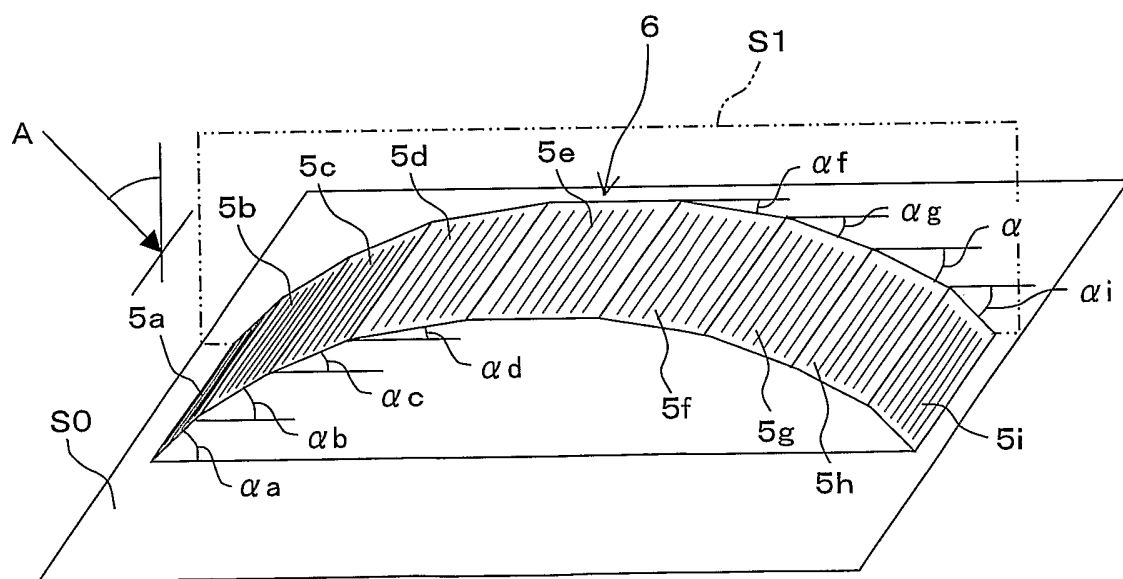


図 3

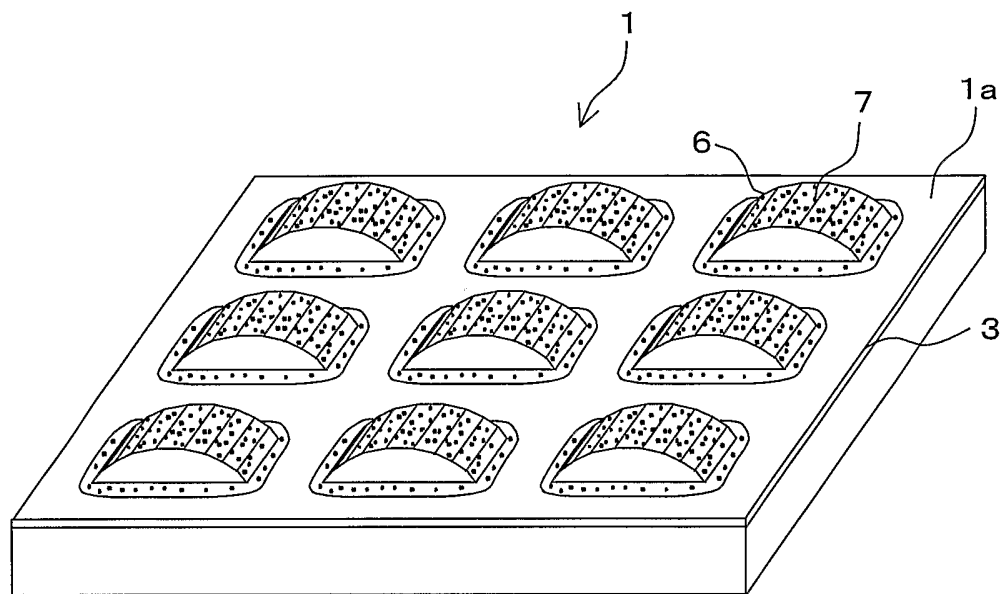


図 4 (a)

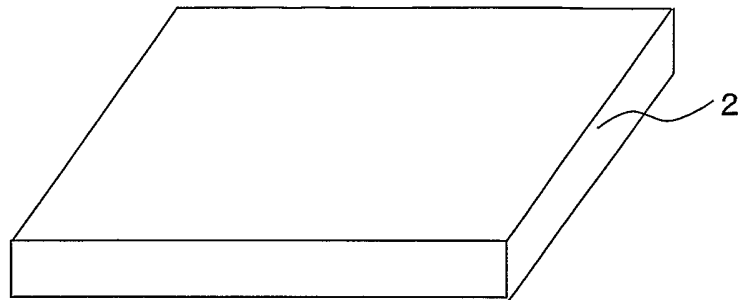


図 4 (b)

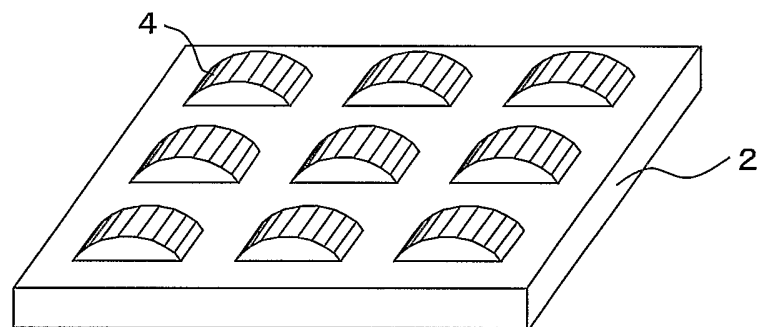


図 4 (c)

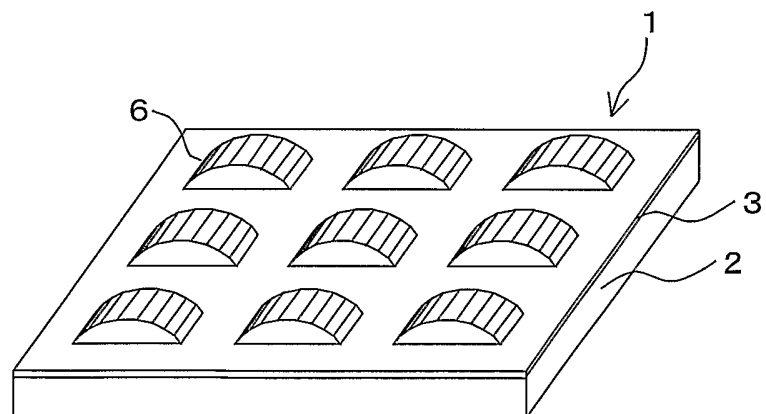


图 5

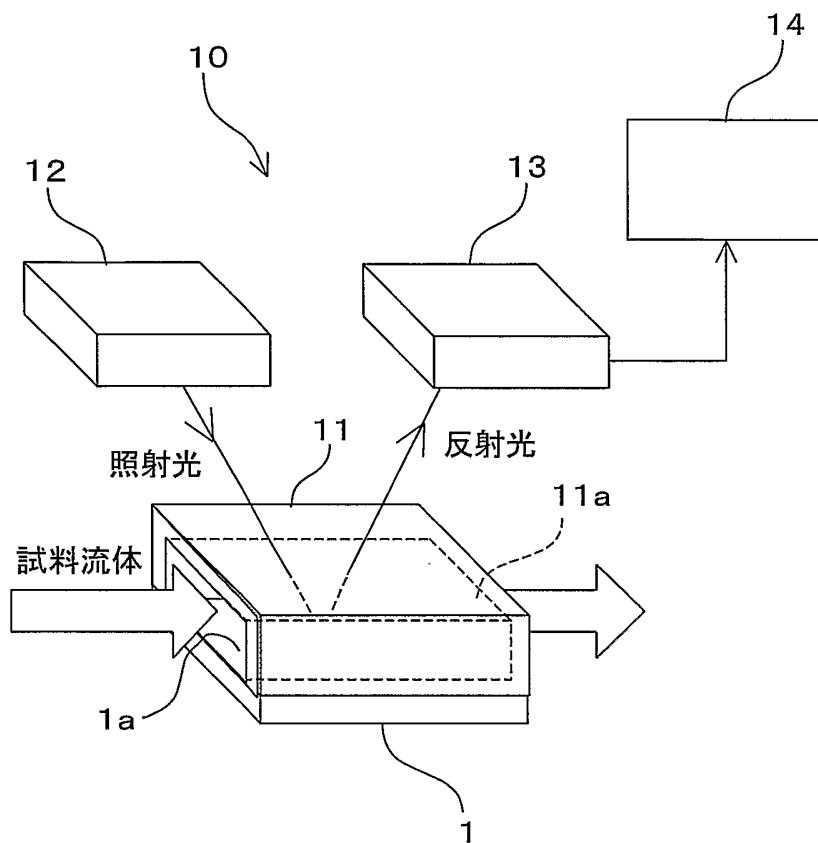


图 6

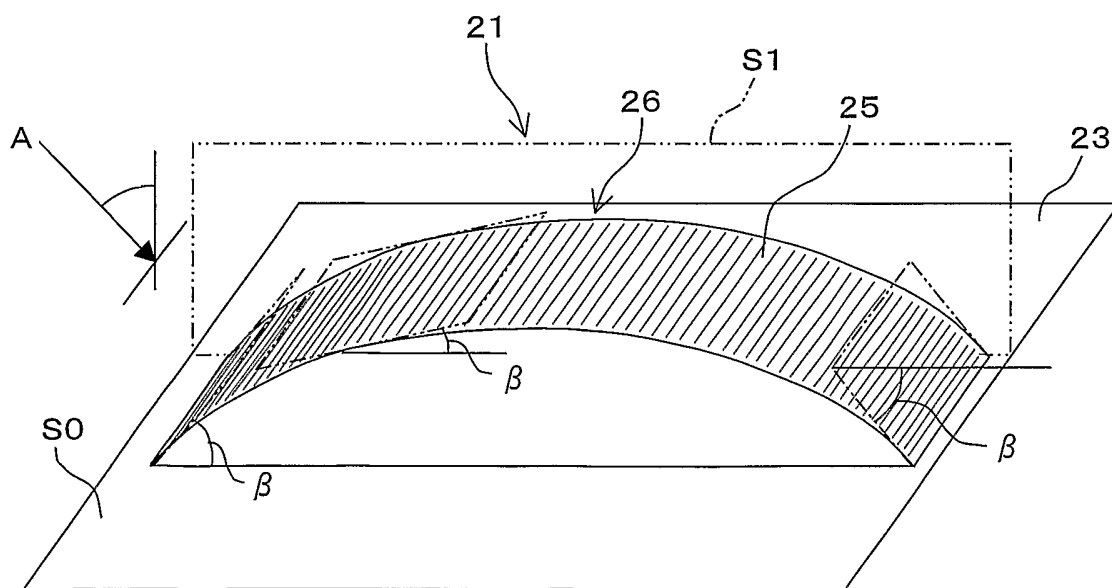


图 7

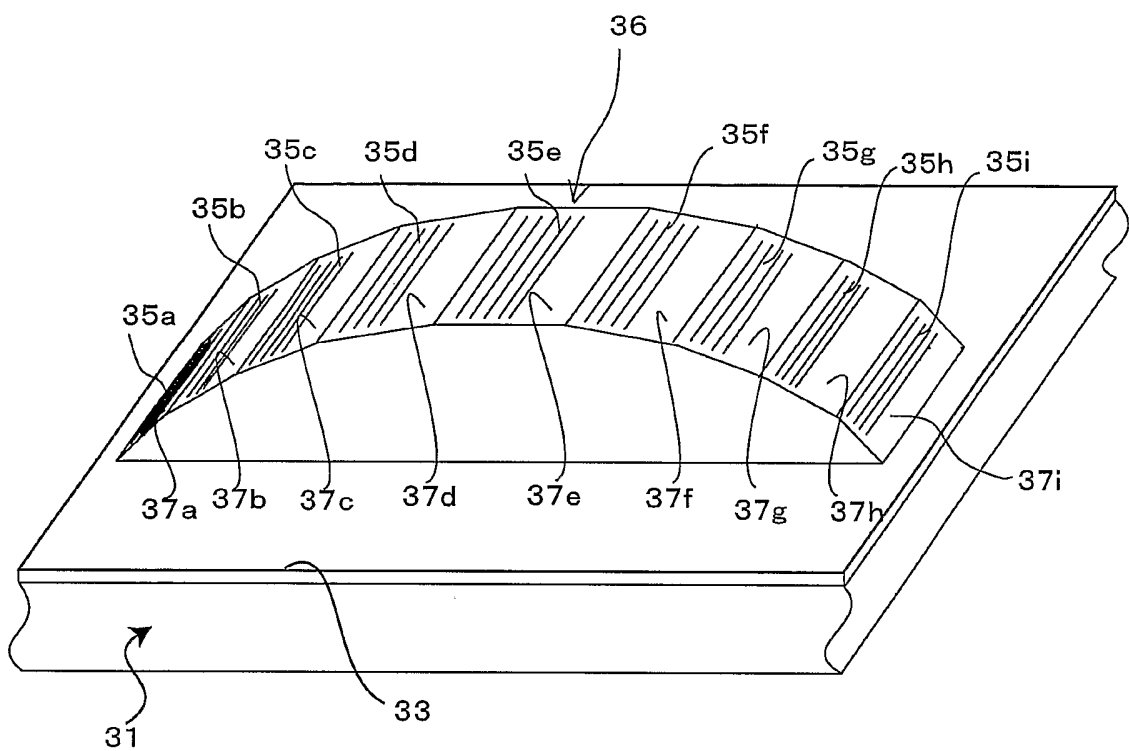


图 8

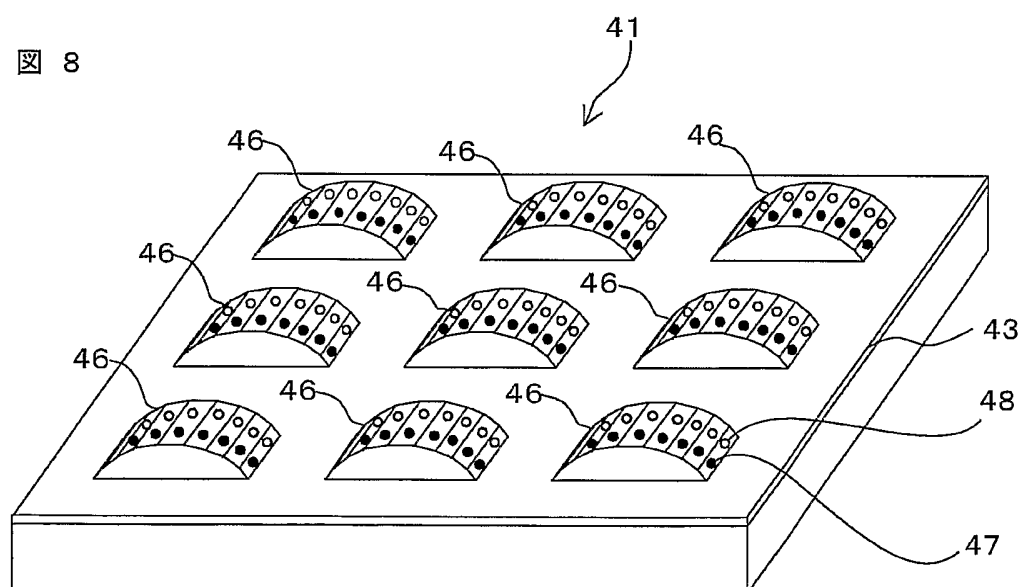


図 9

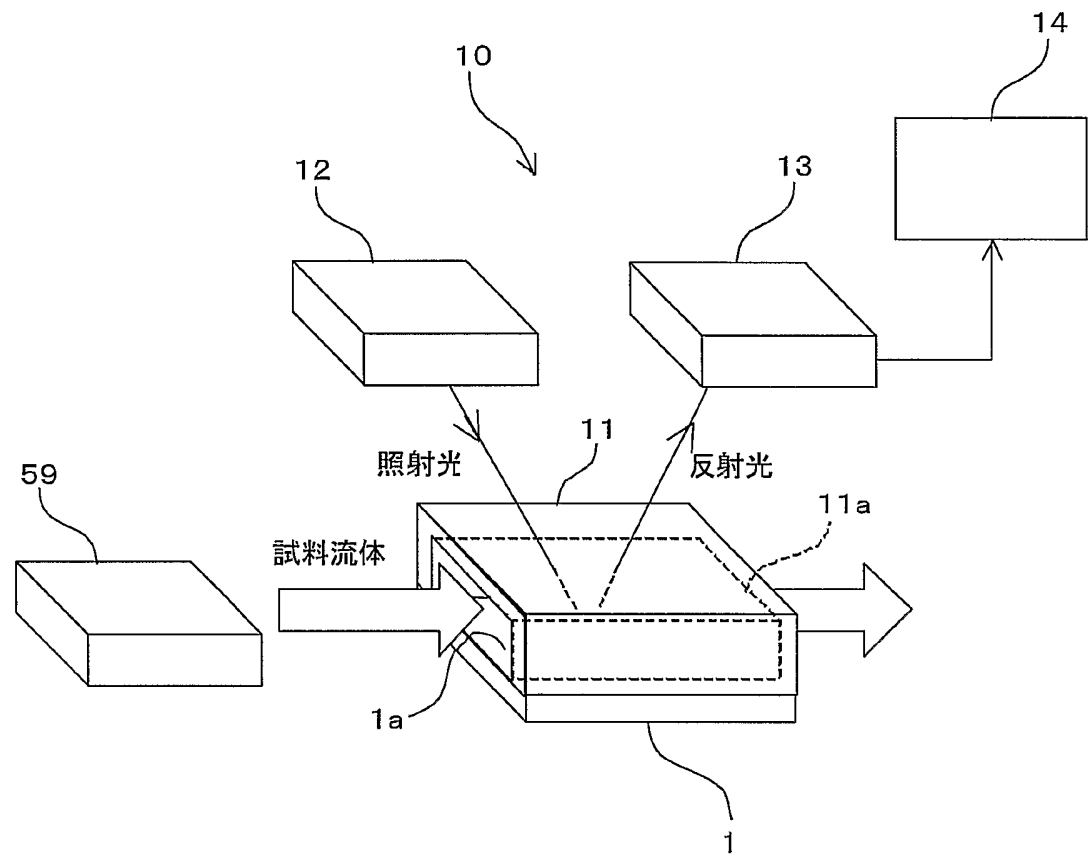


図 10

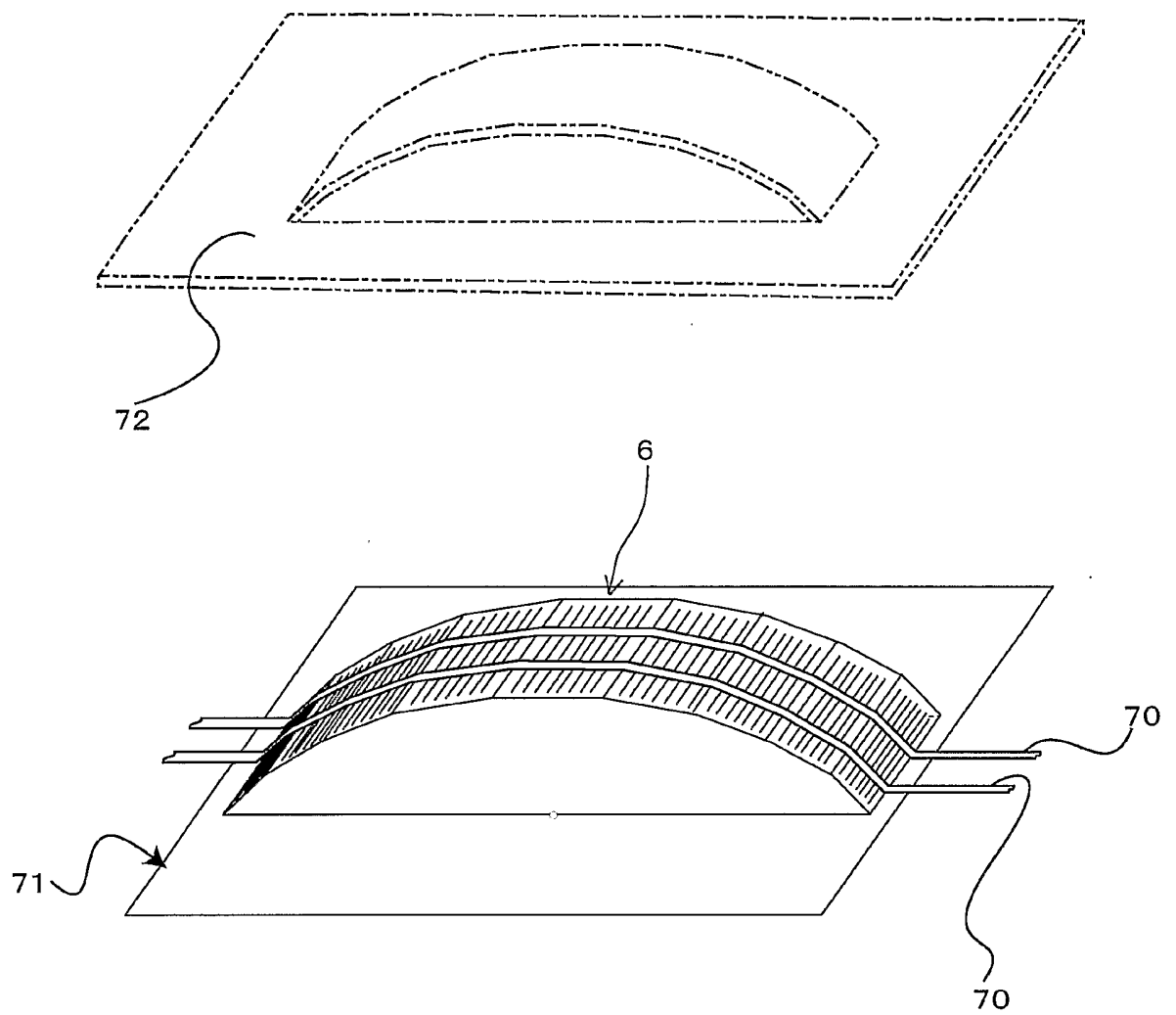


図 11

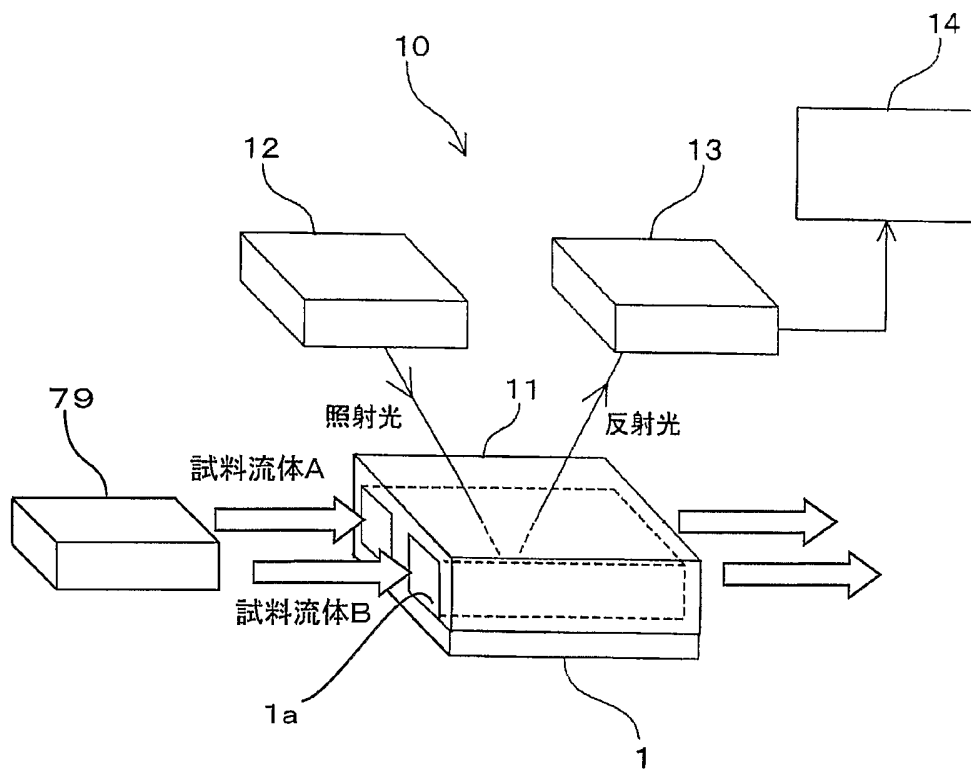


図 12

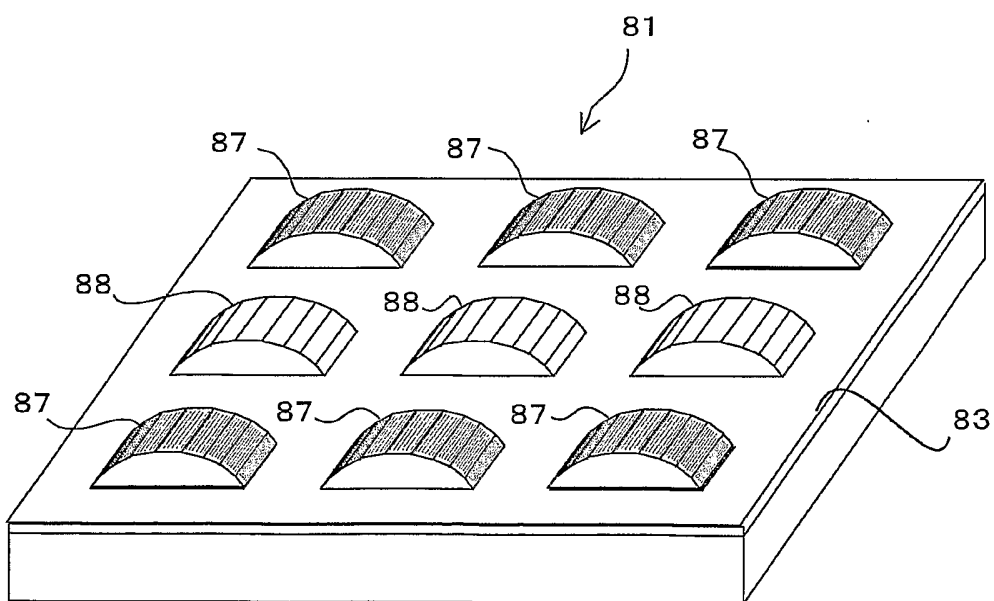


図 13

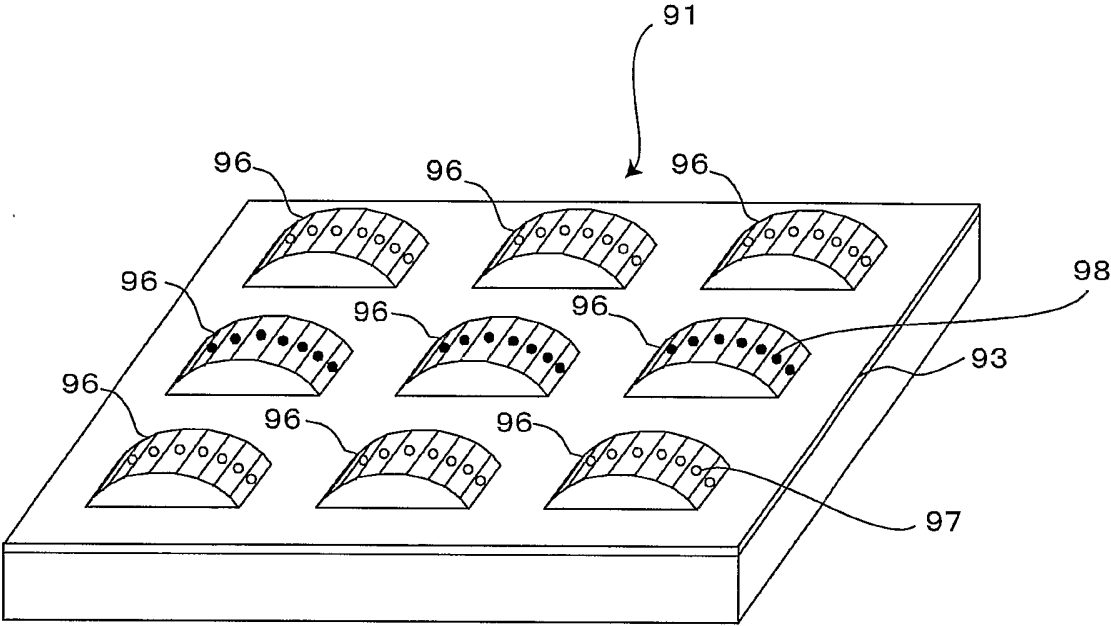


図 14

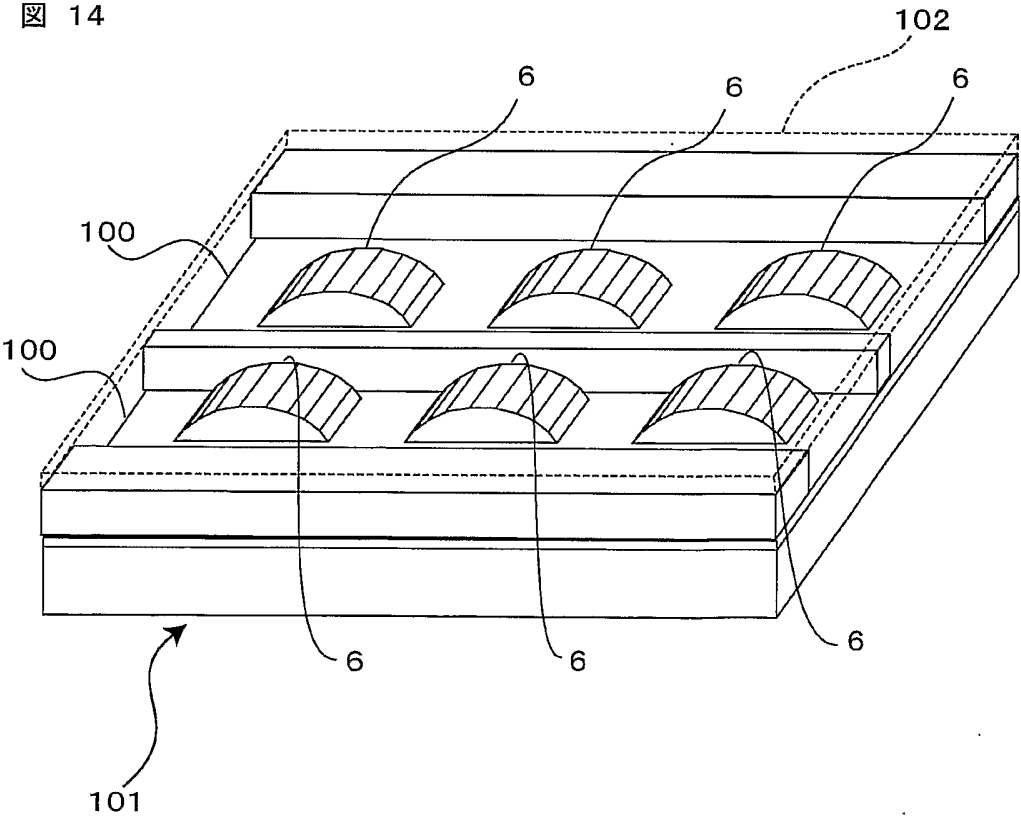


図 15

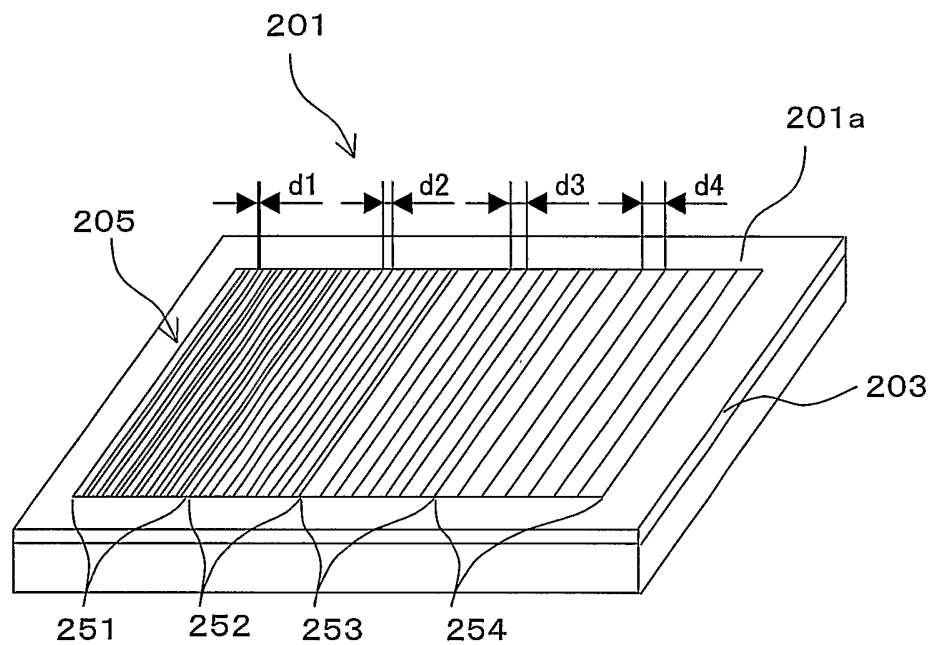


図 16

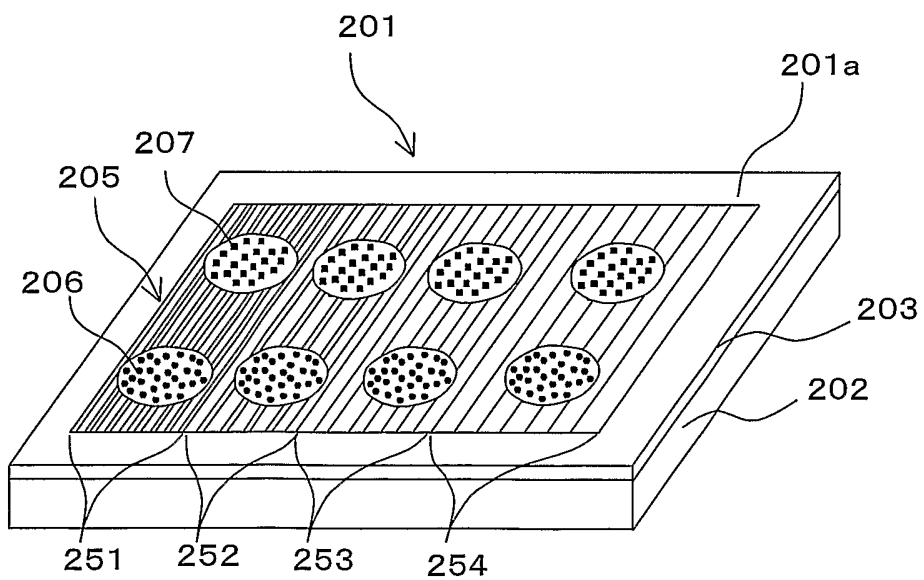


図 17

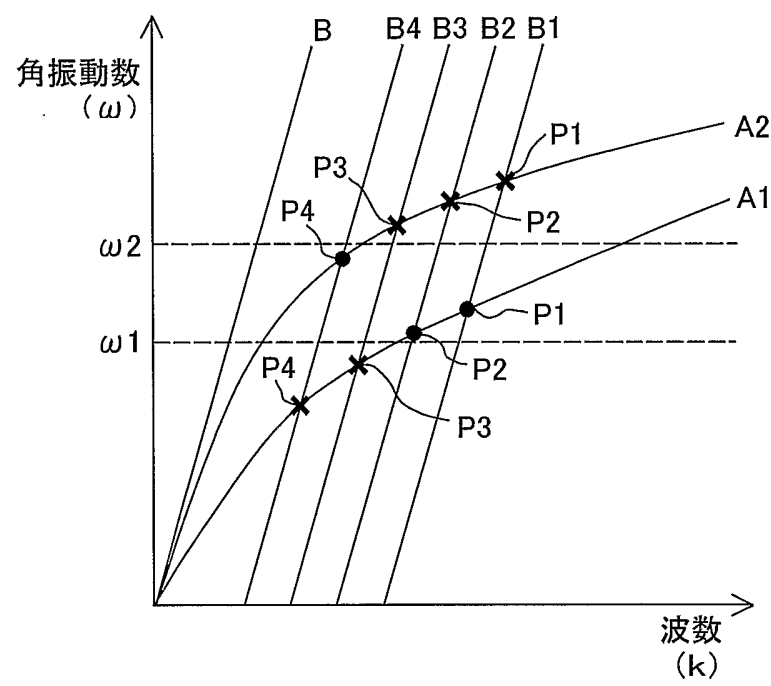


図 18(a)

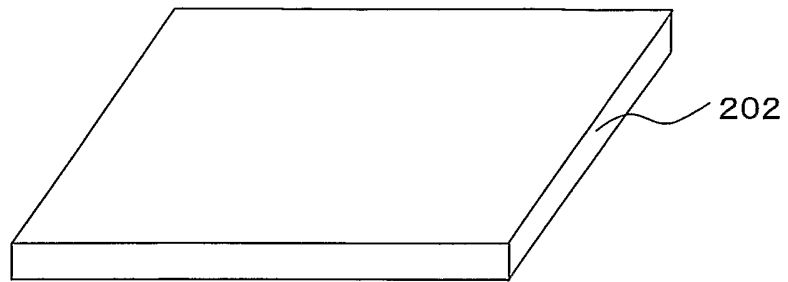


図 18(b)

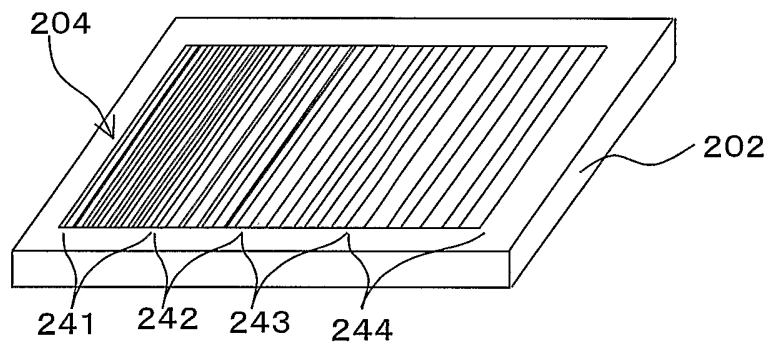


図 18(c)

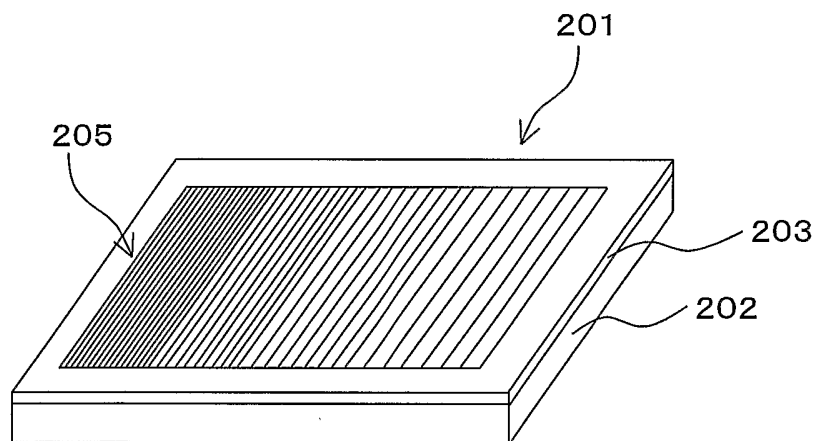


図 19

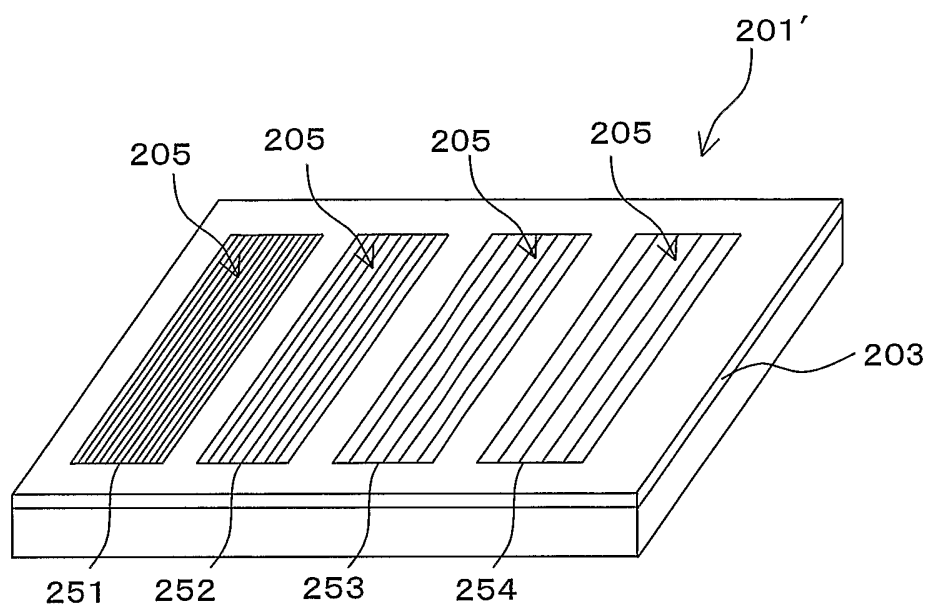


図 20

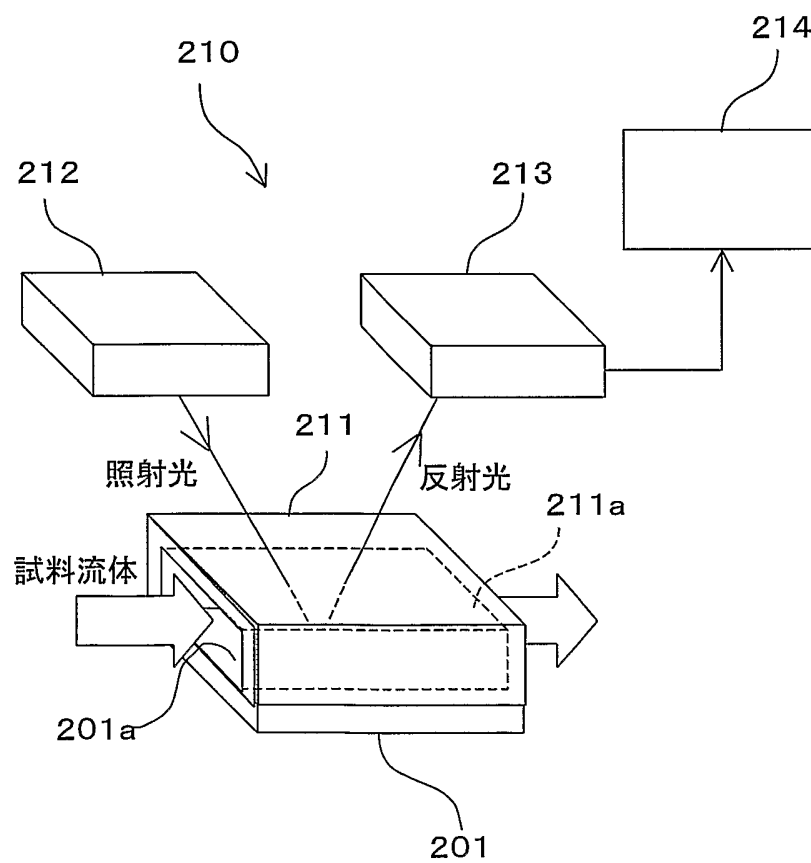


図 21(a)

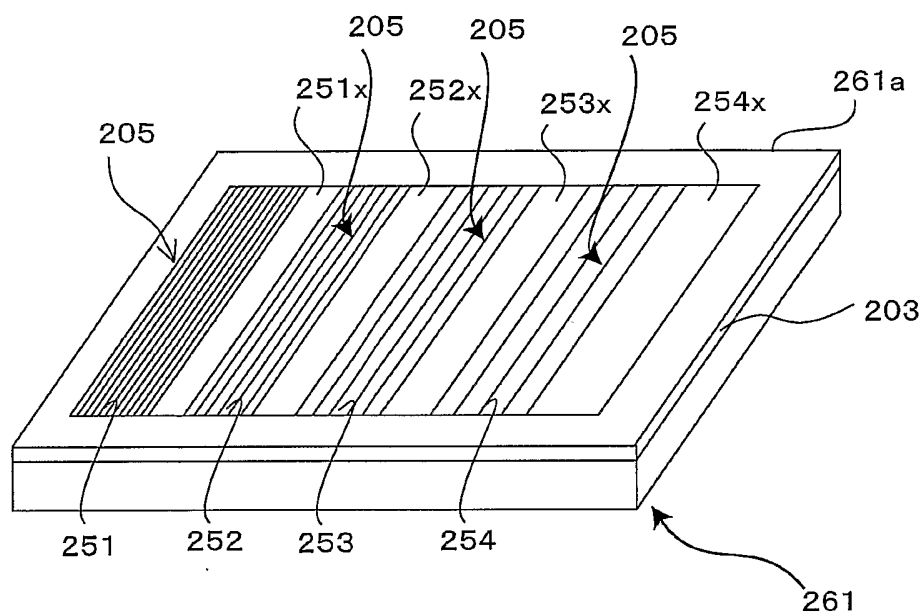


図 21(b)

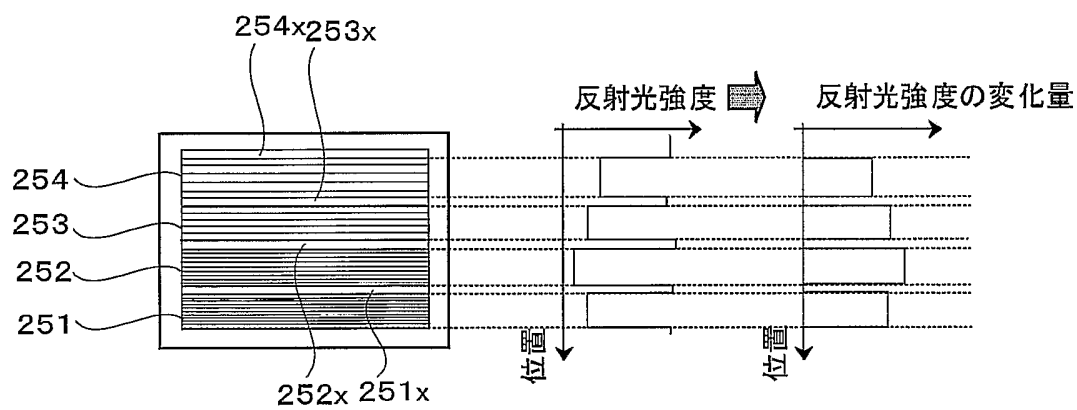


図 22

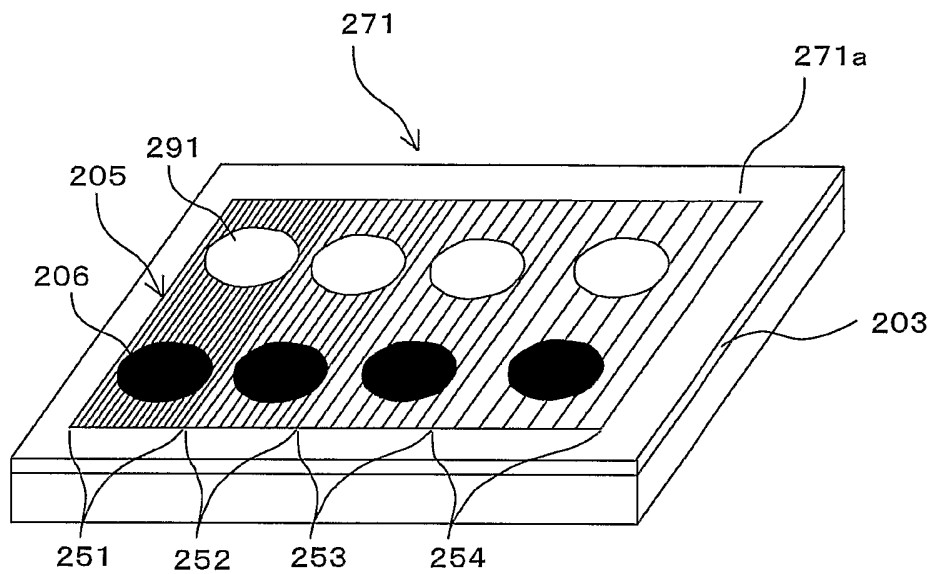


図 23

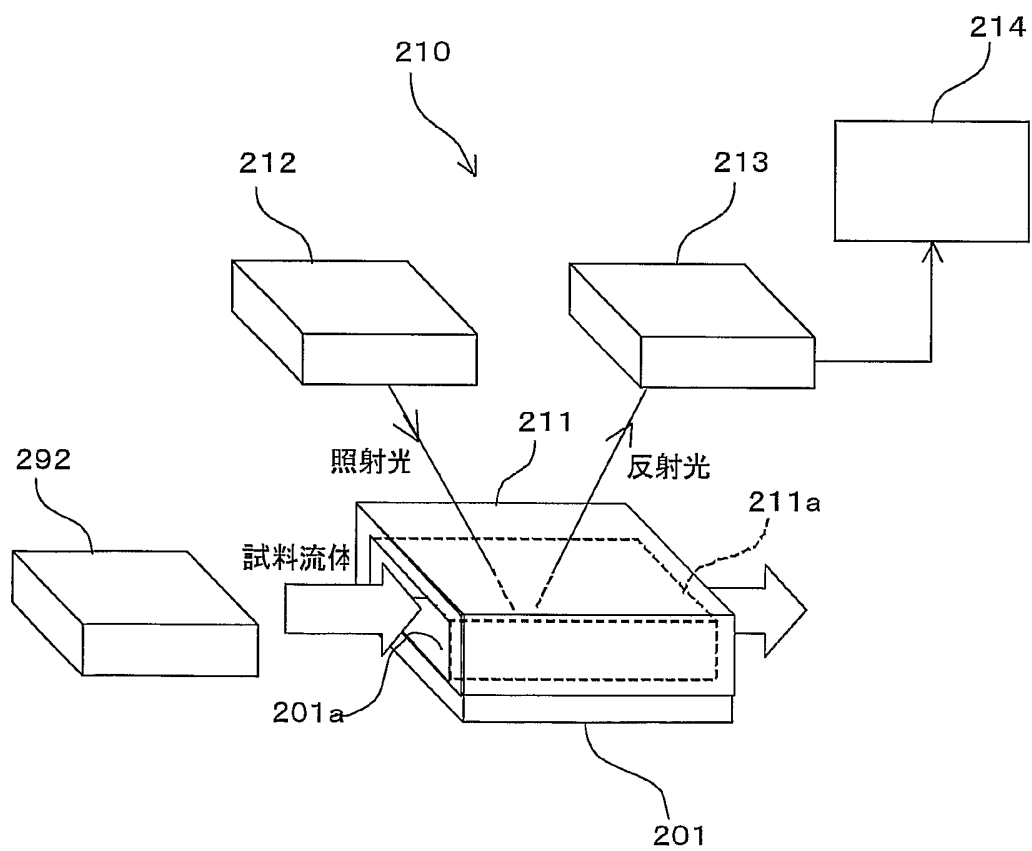


図 24

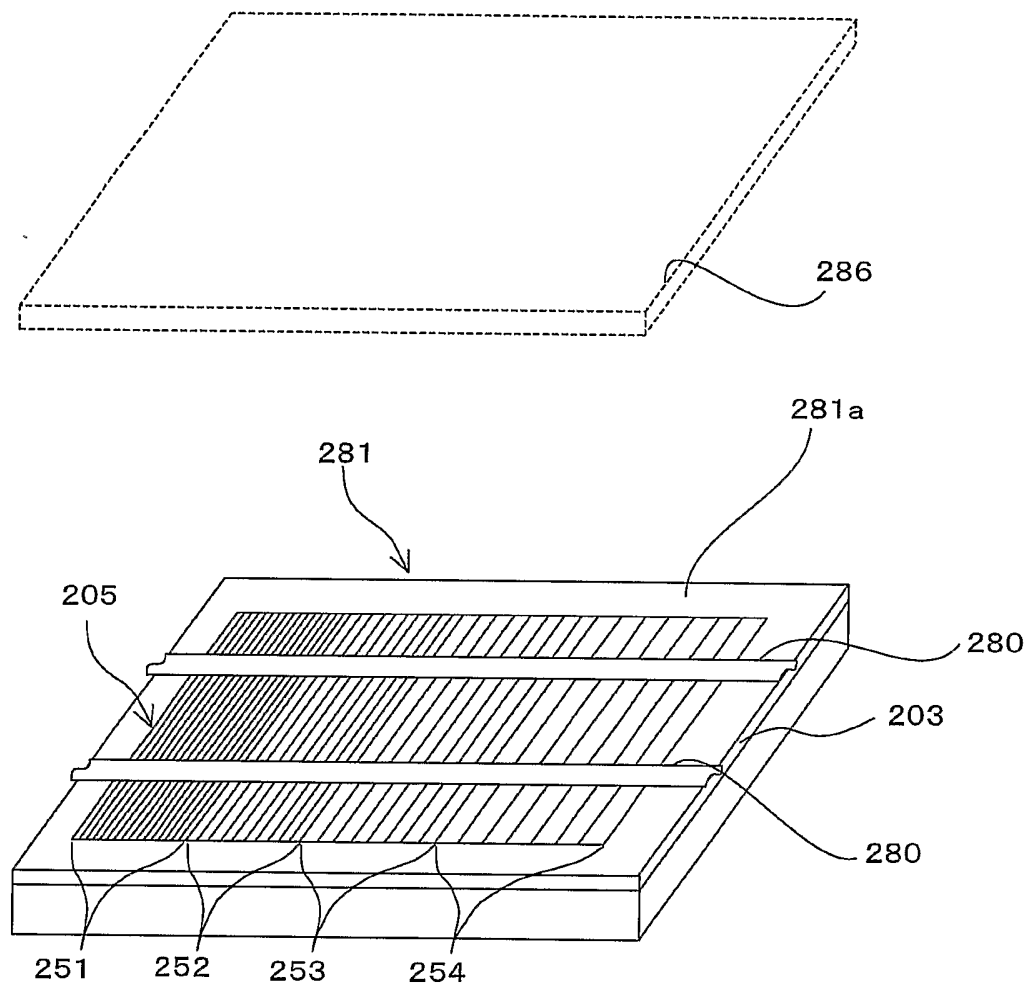
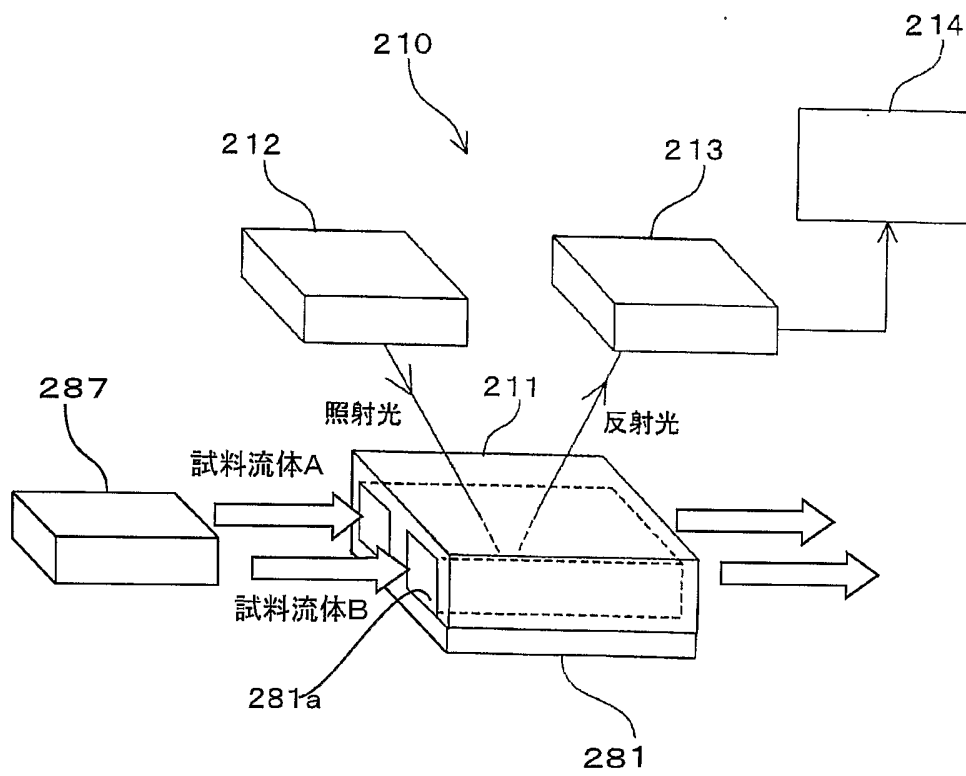
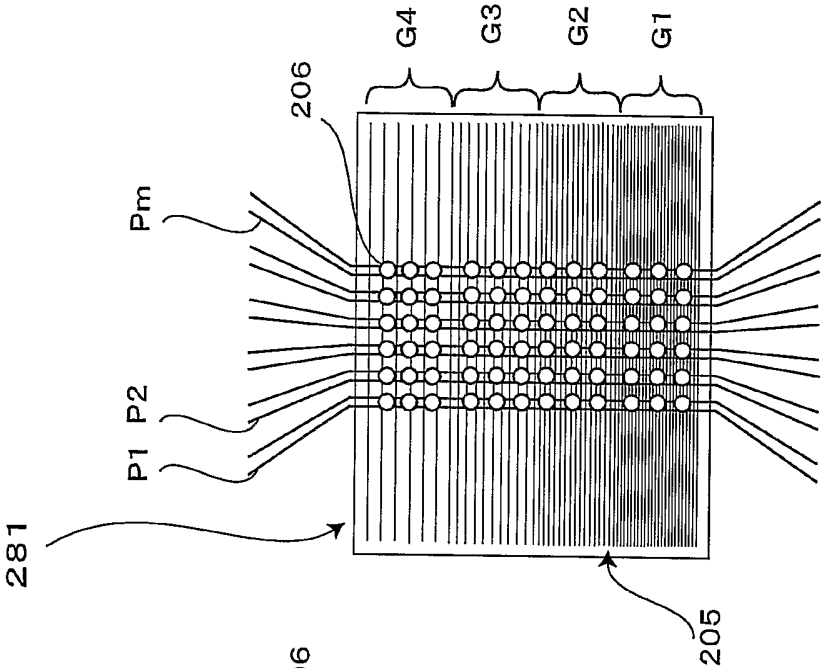
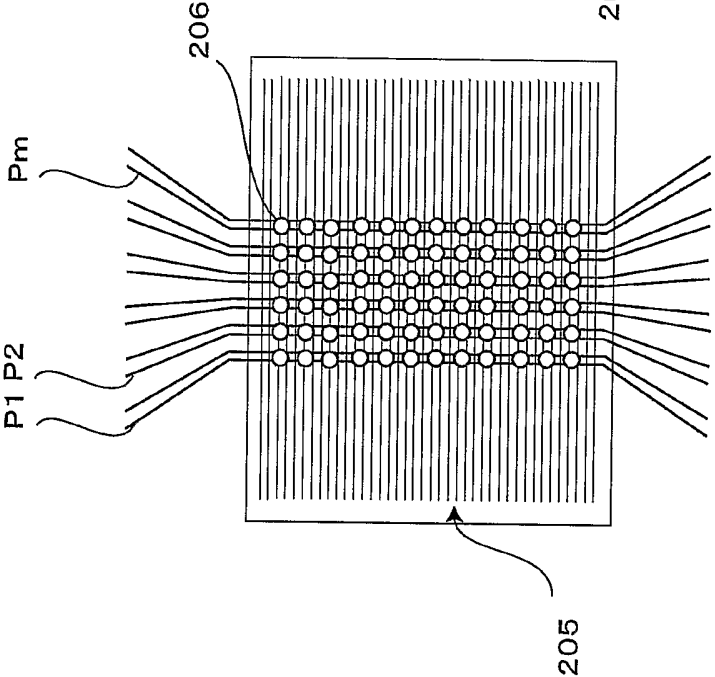


図 25





26(a)



26(b)

図 27(a)

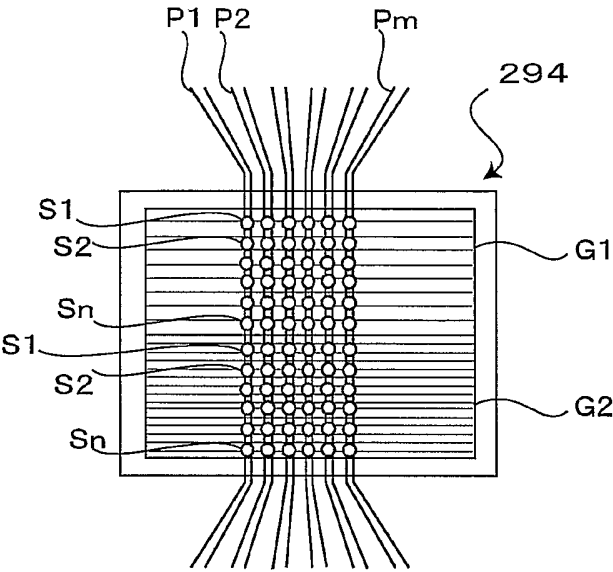
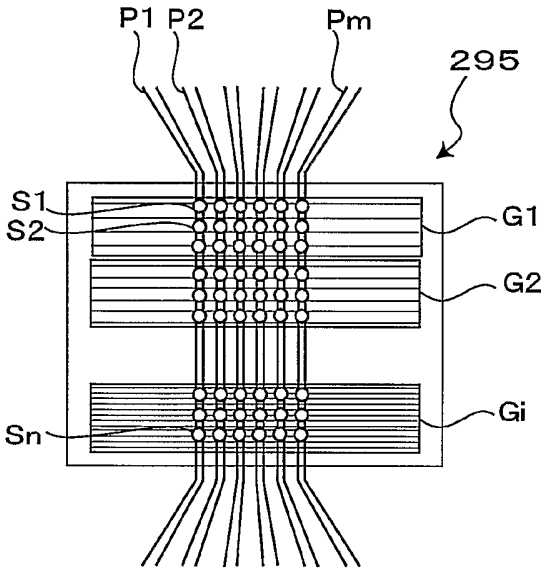


図 27(b)



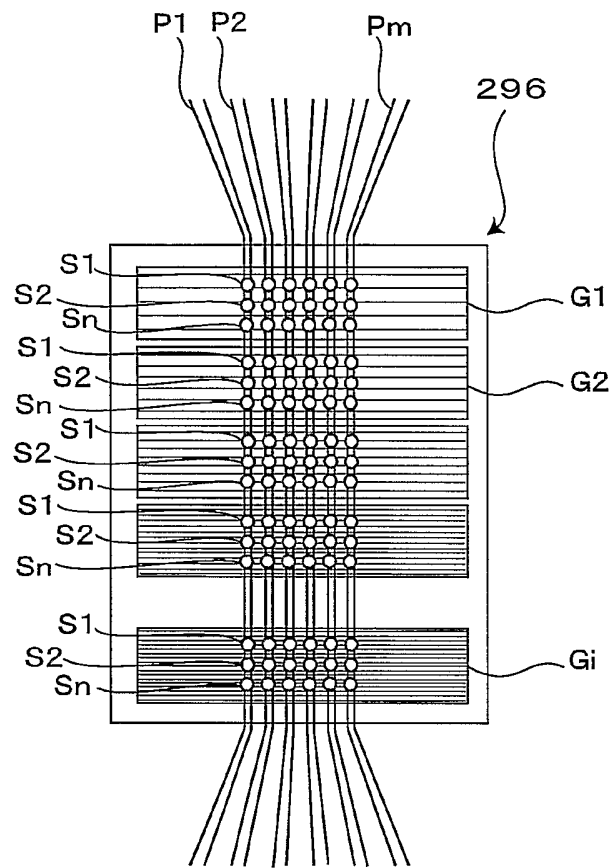


図 27(c)

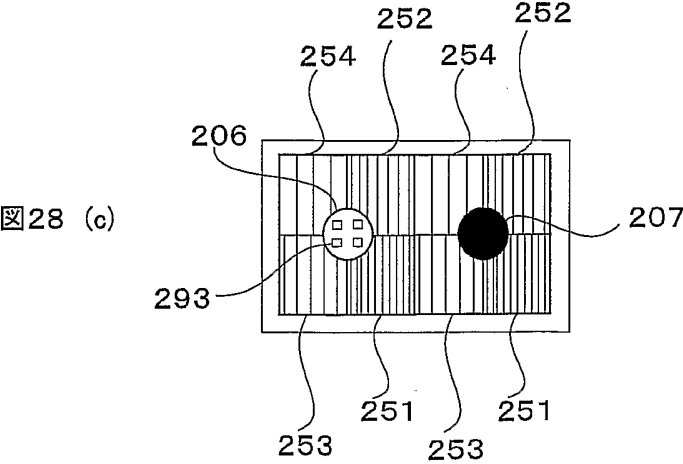
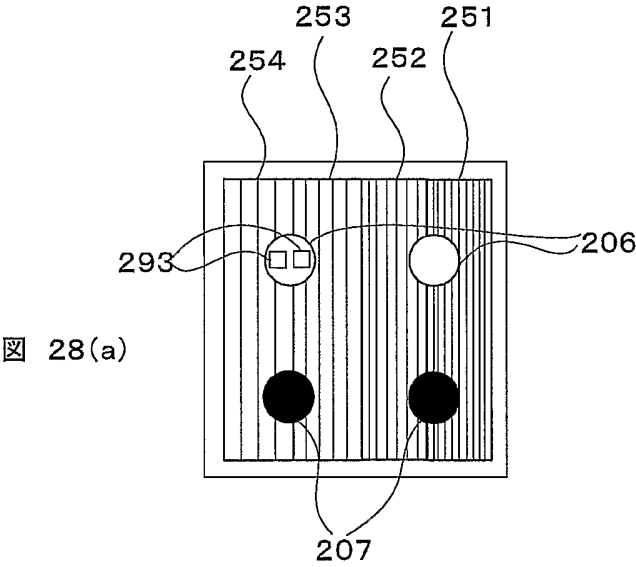
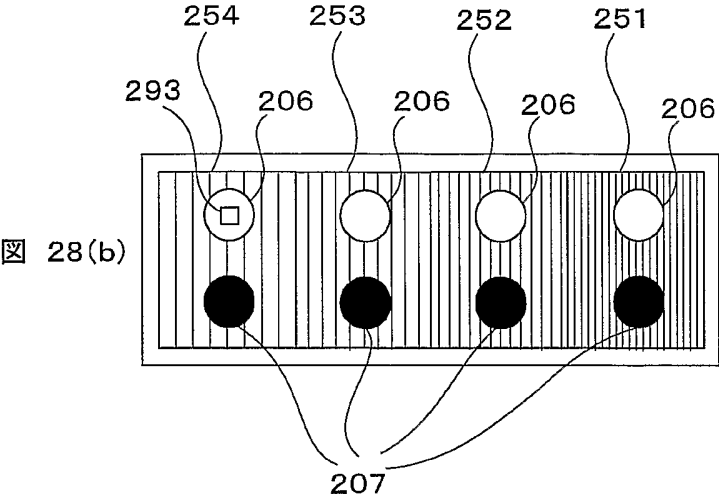


图 29

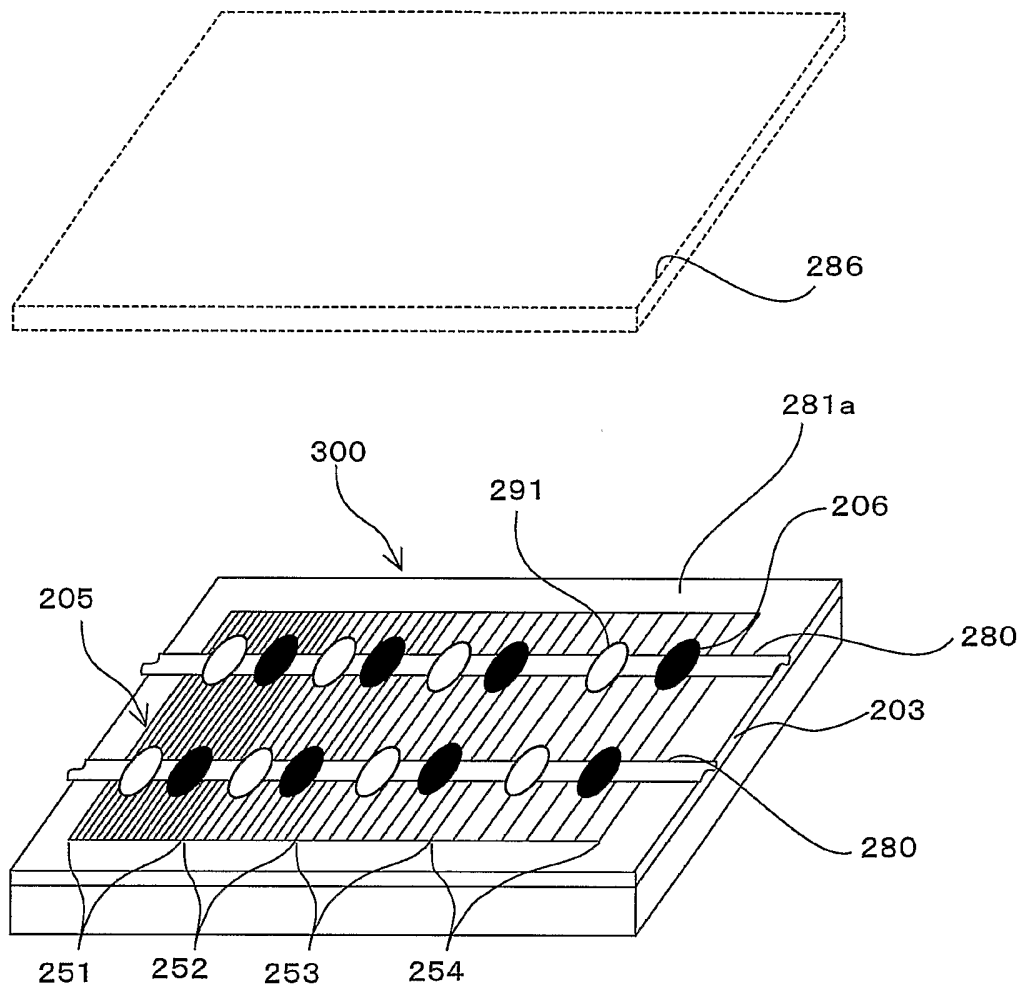


図 30

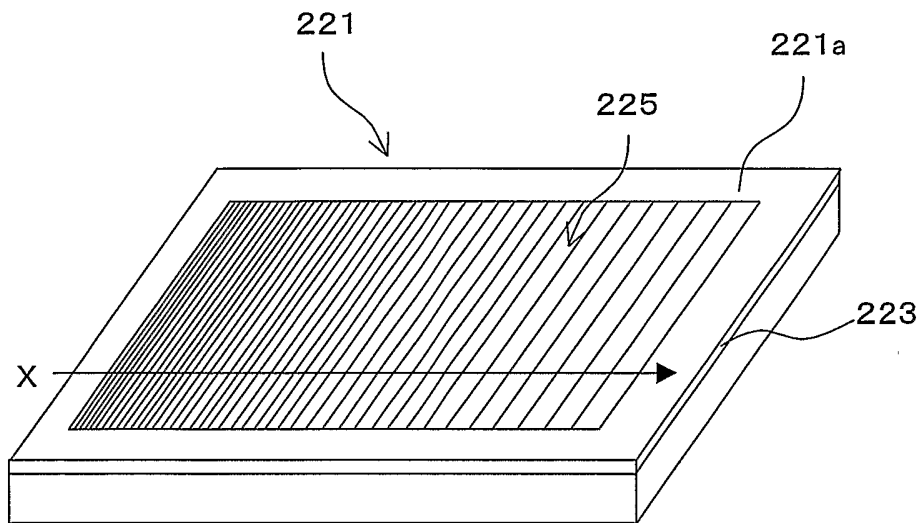


図 31

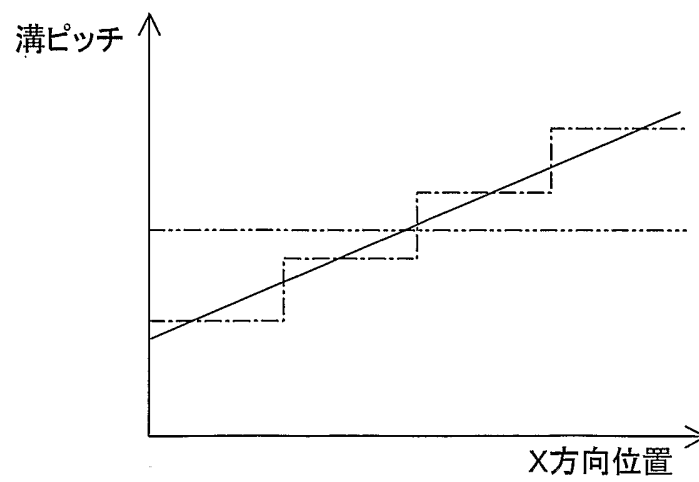


図 32

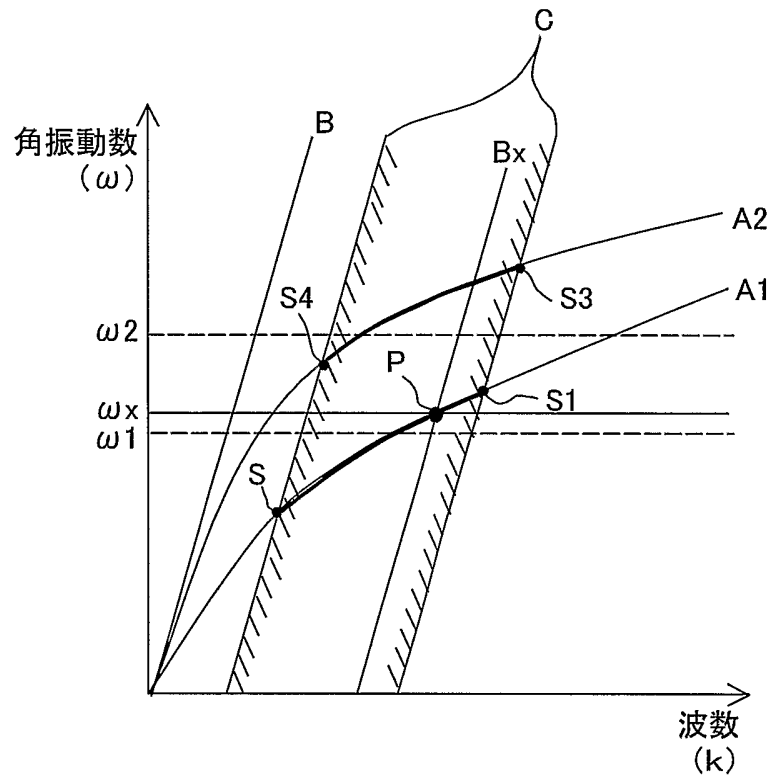


図 33

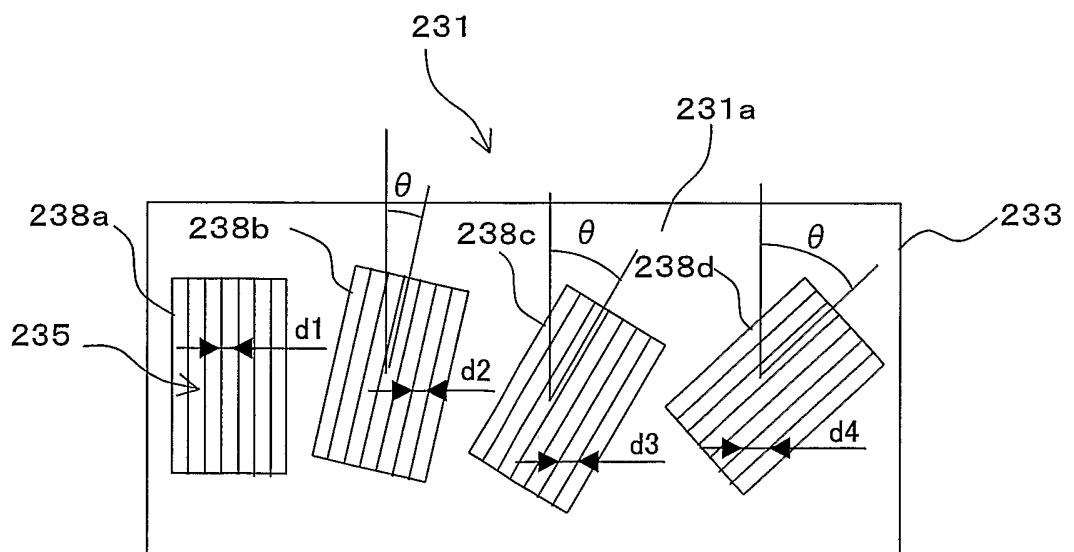


図 34

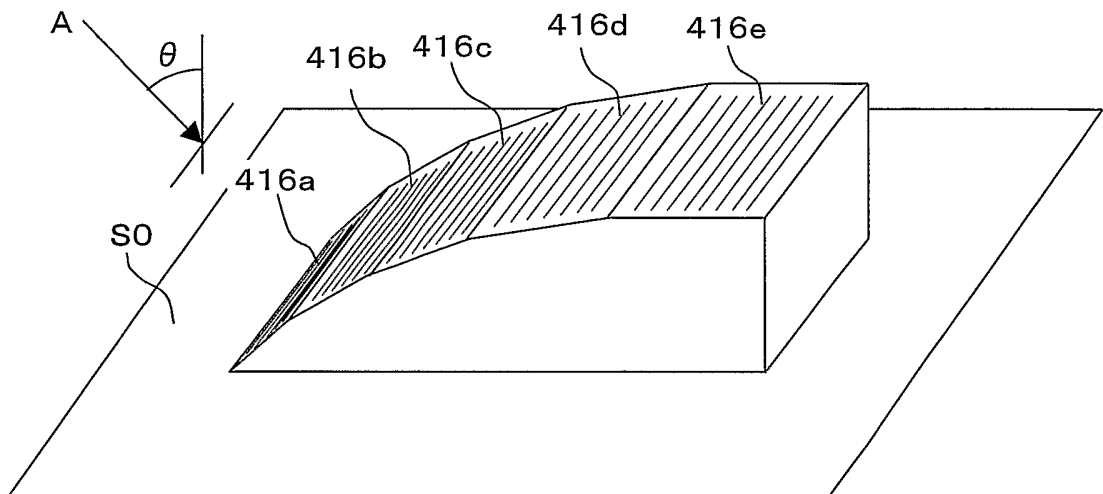


図 35

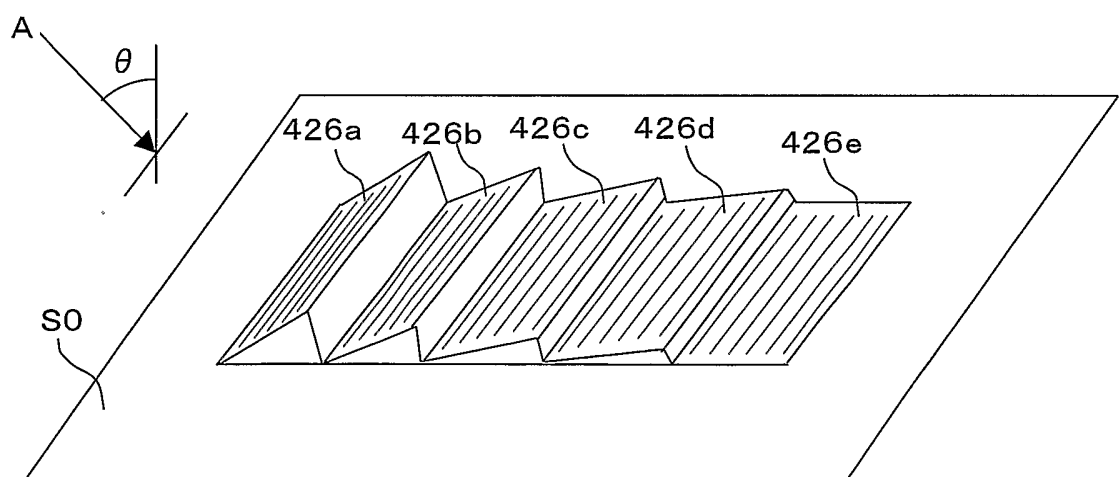


図 36

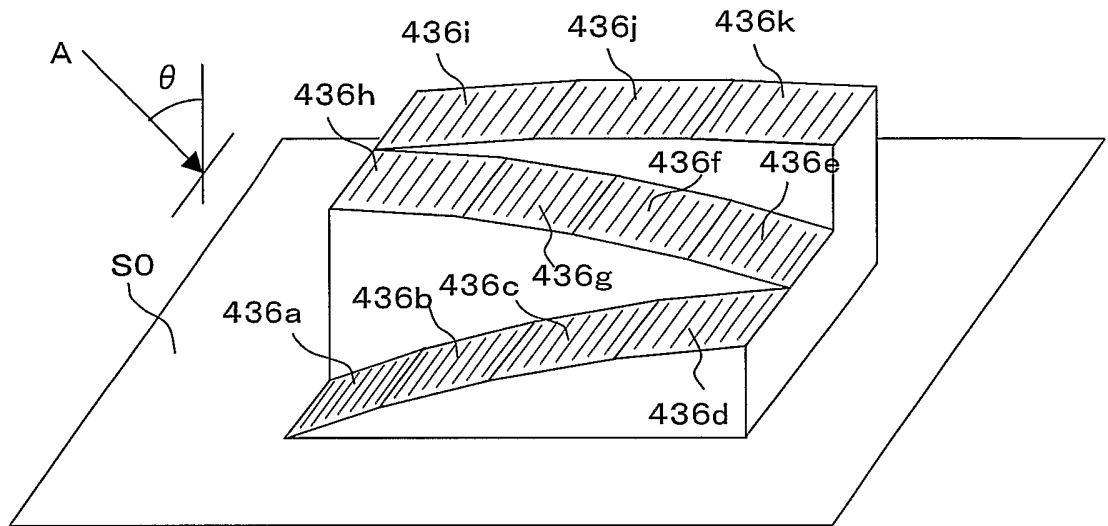


図 37

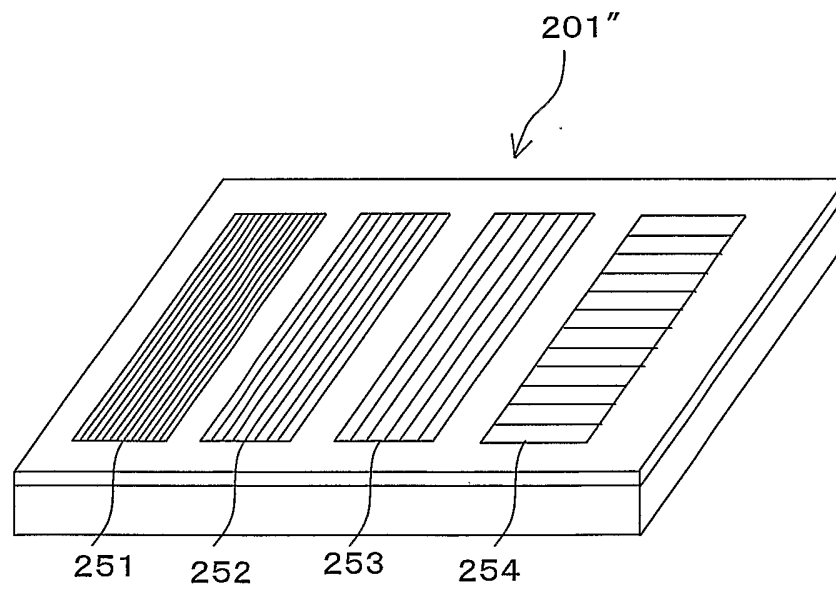


図 38

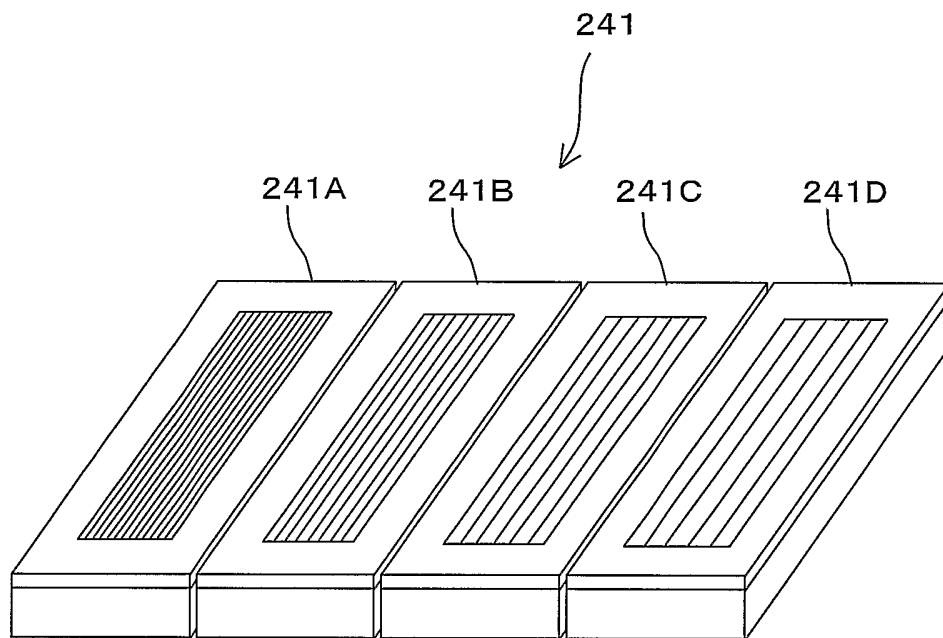


図 39

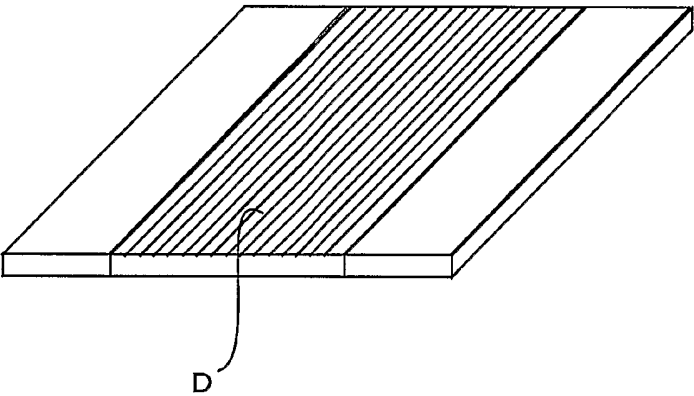


図 40

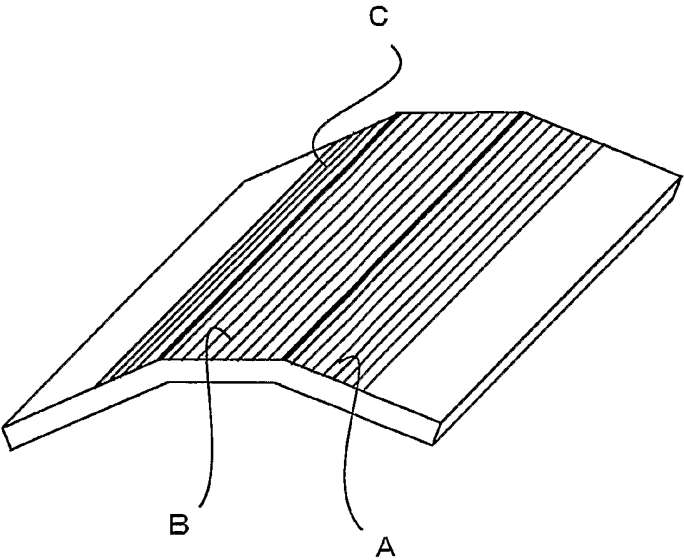


图 41

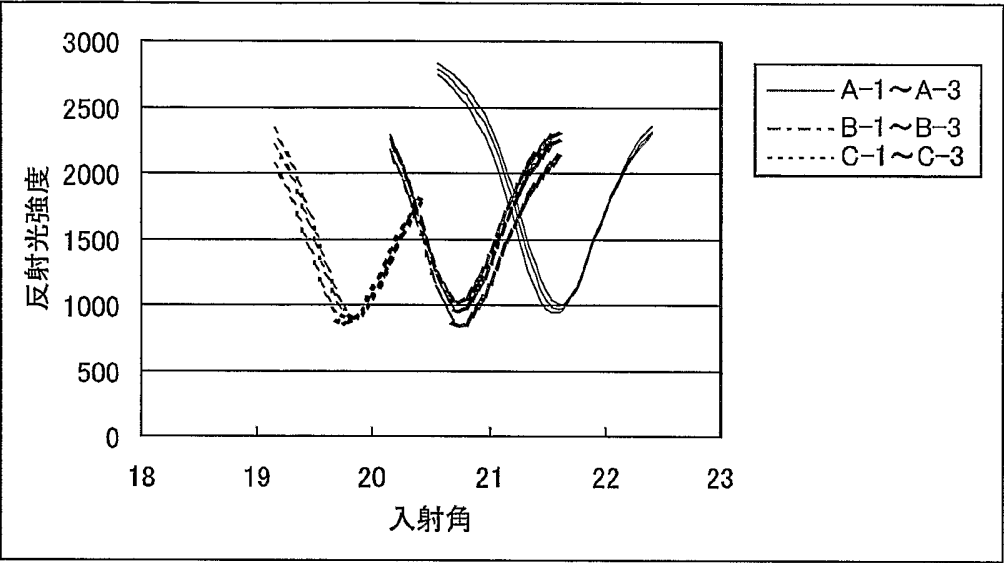


图 42

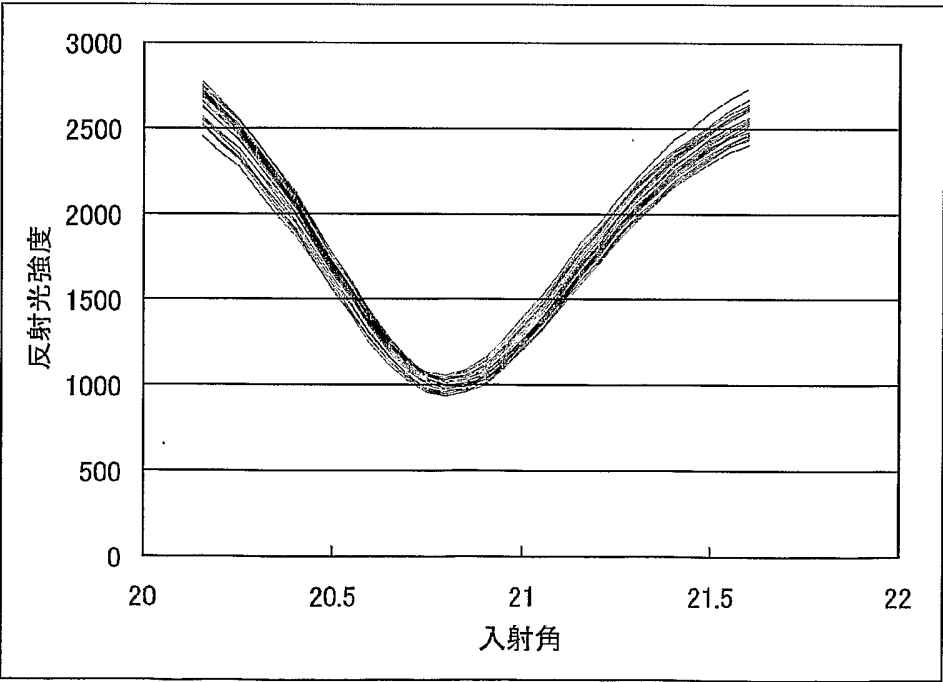


図 43

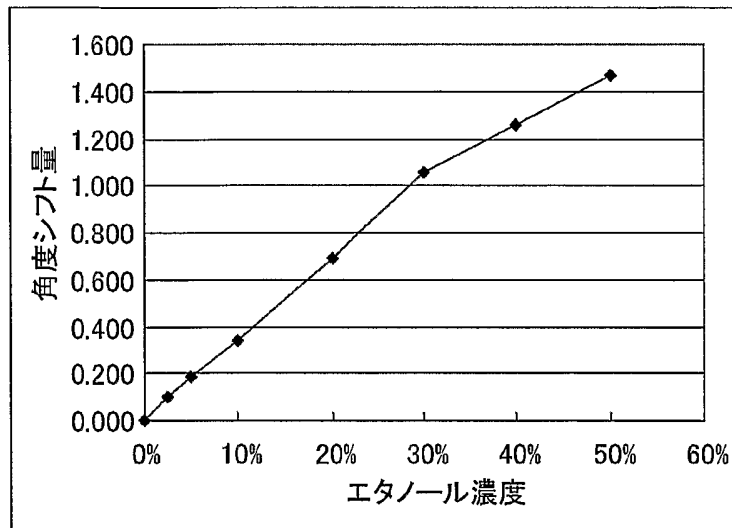


図 44

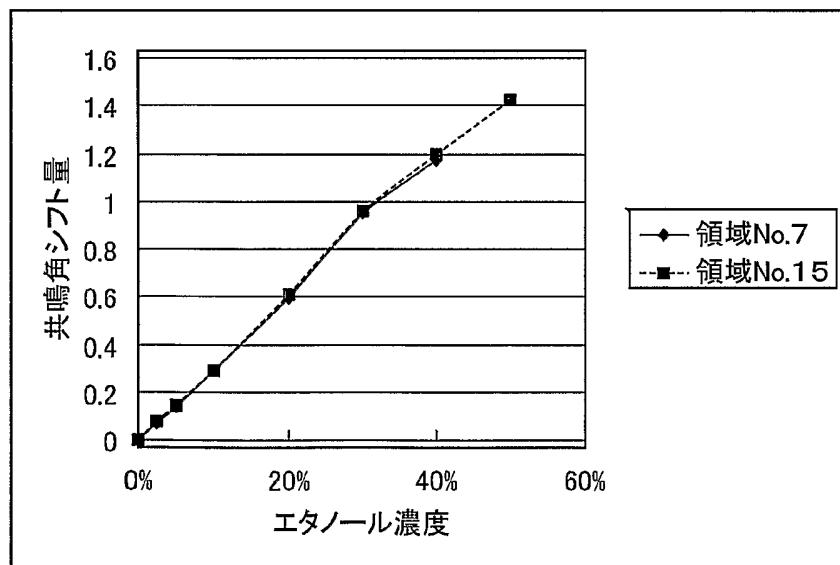


図 45

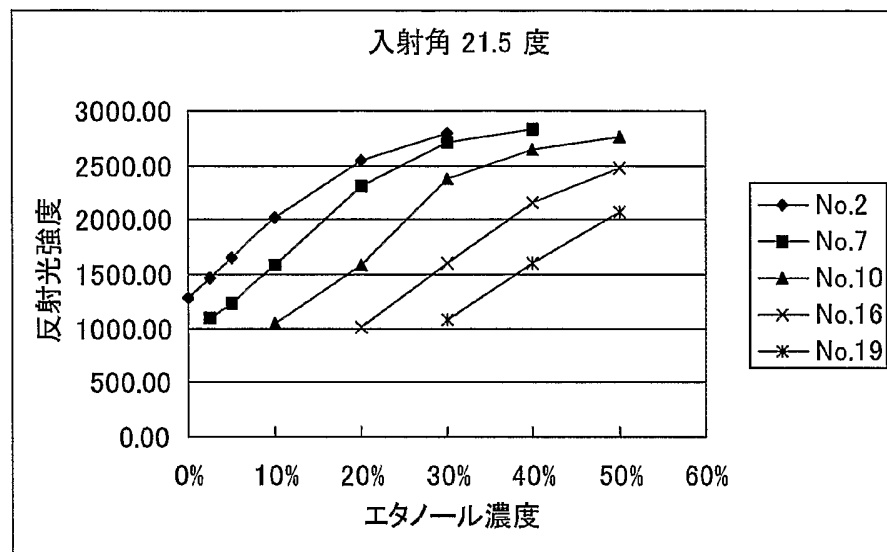


図 46

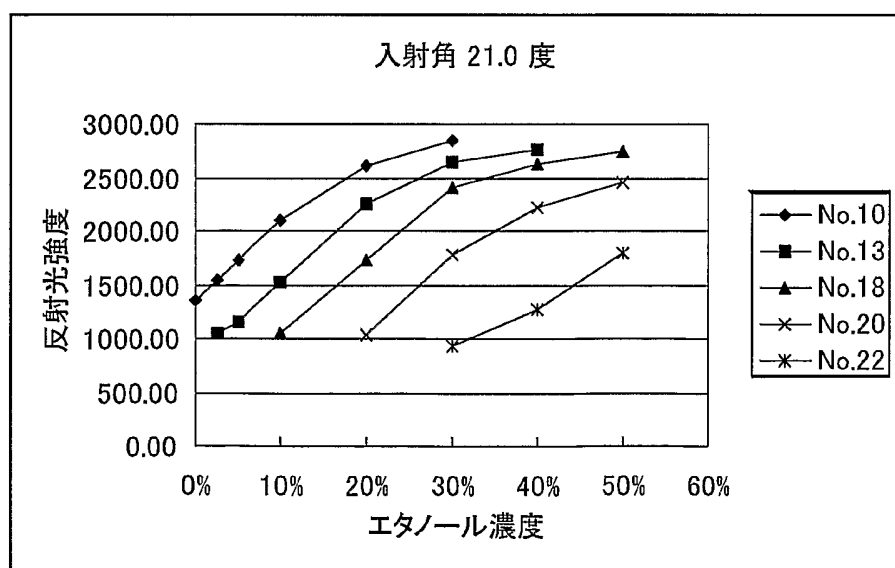


図47

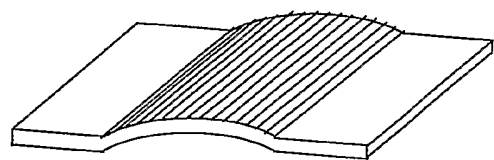


図 48

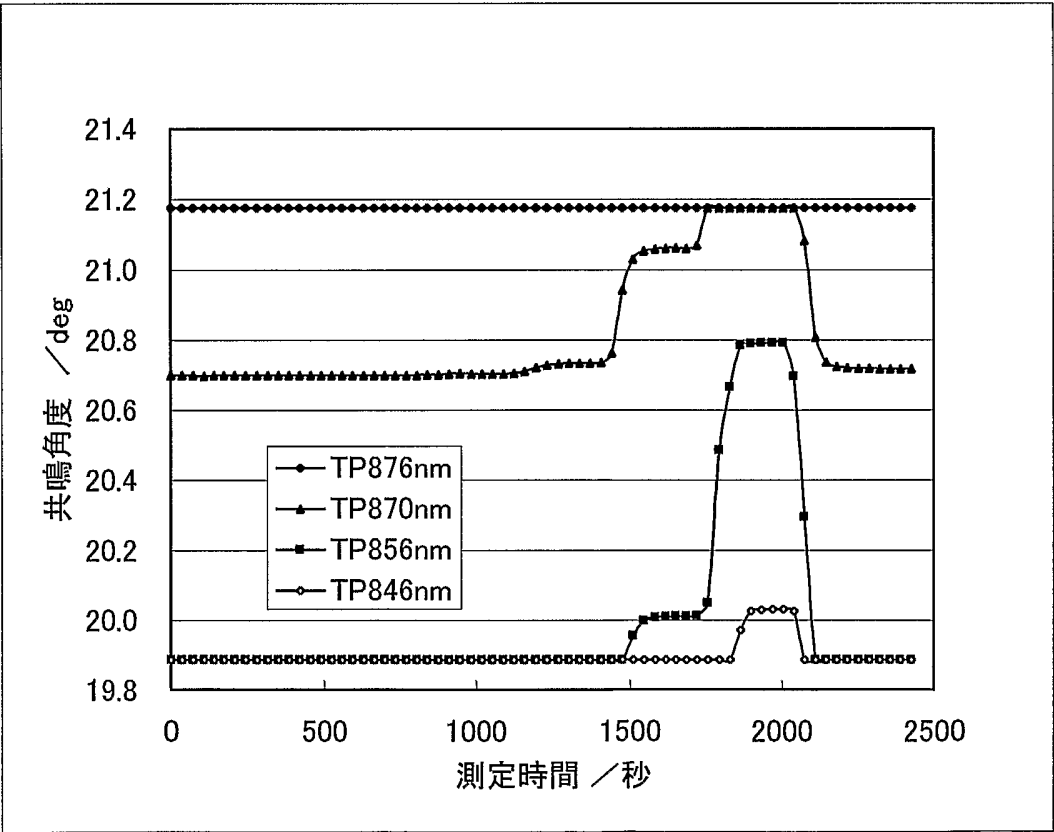


図 49

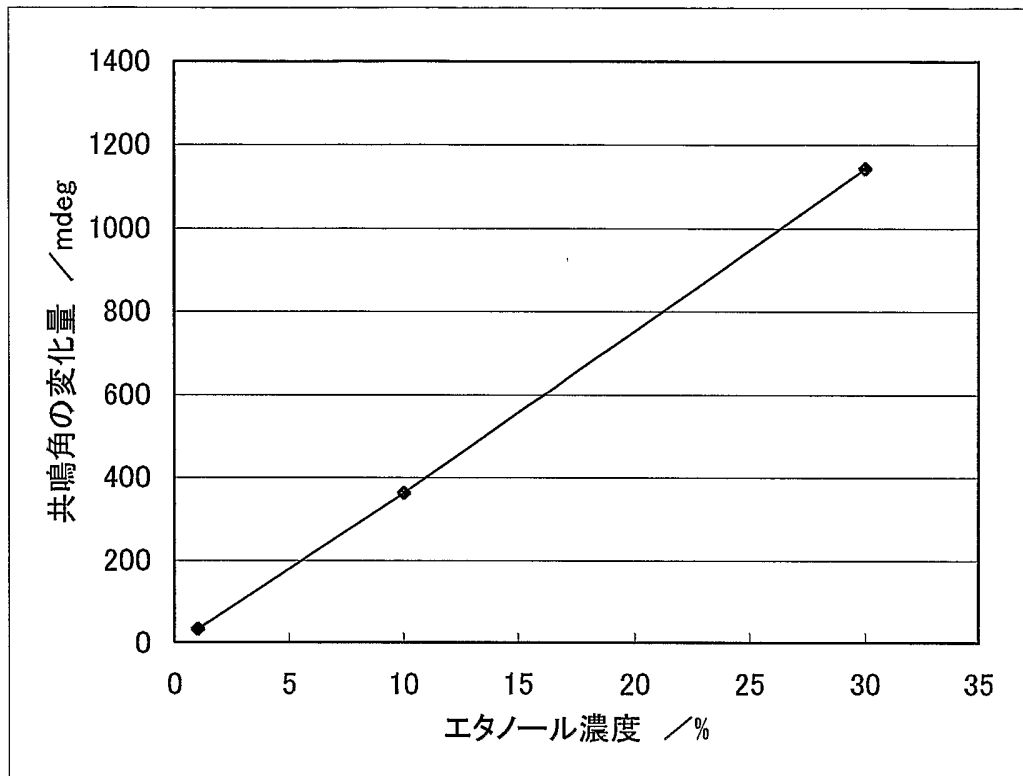


図 50(a)

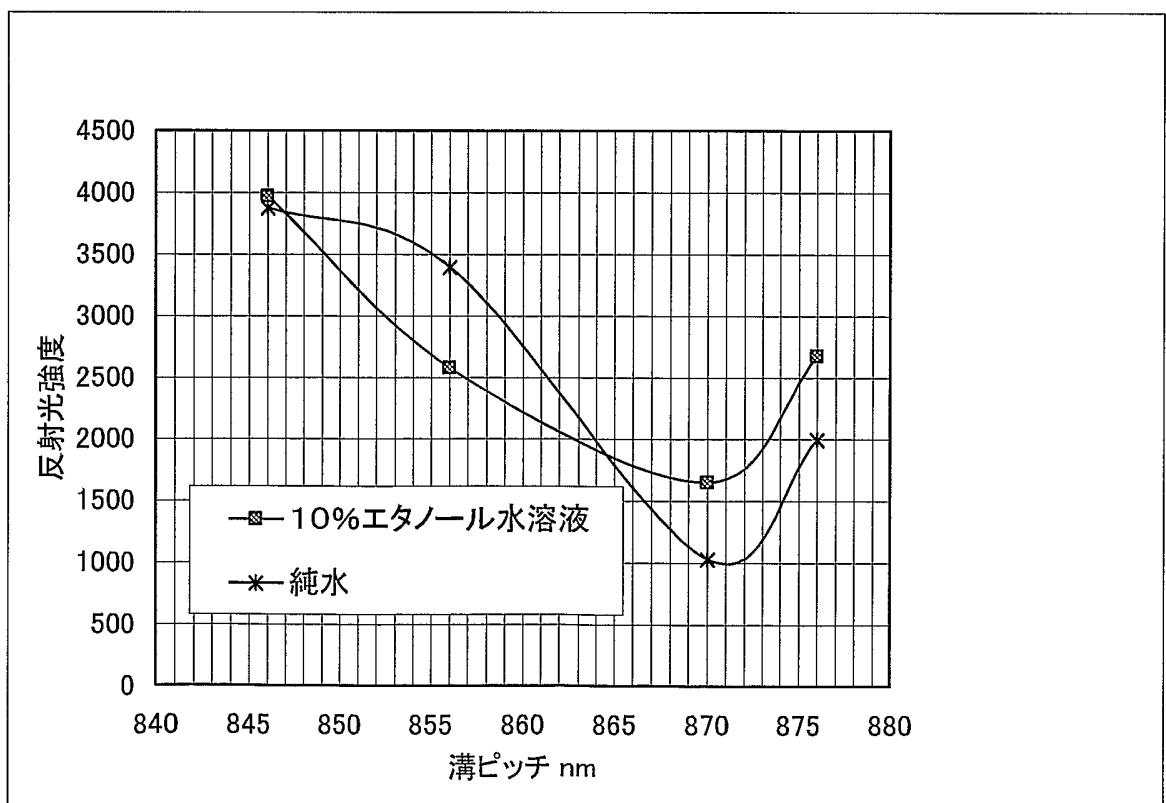


図 50(b)

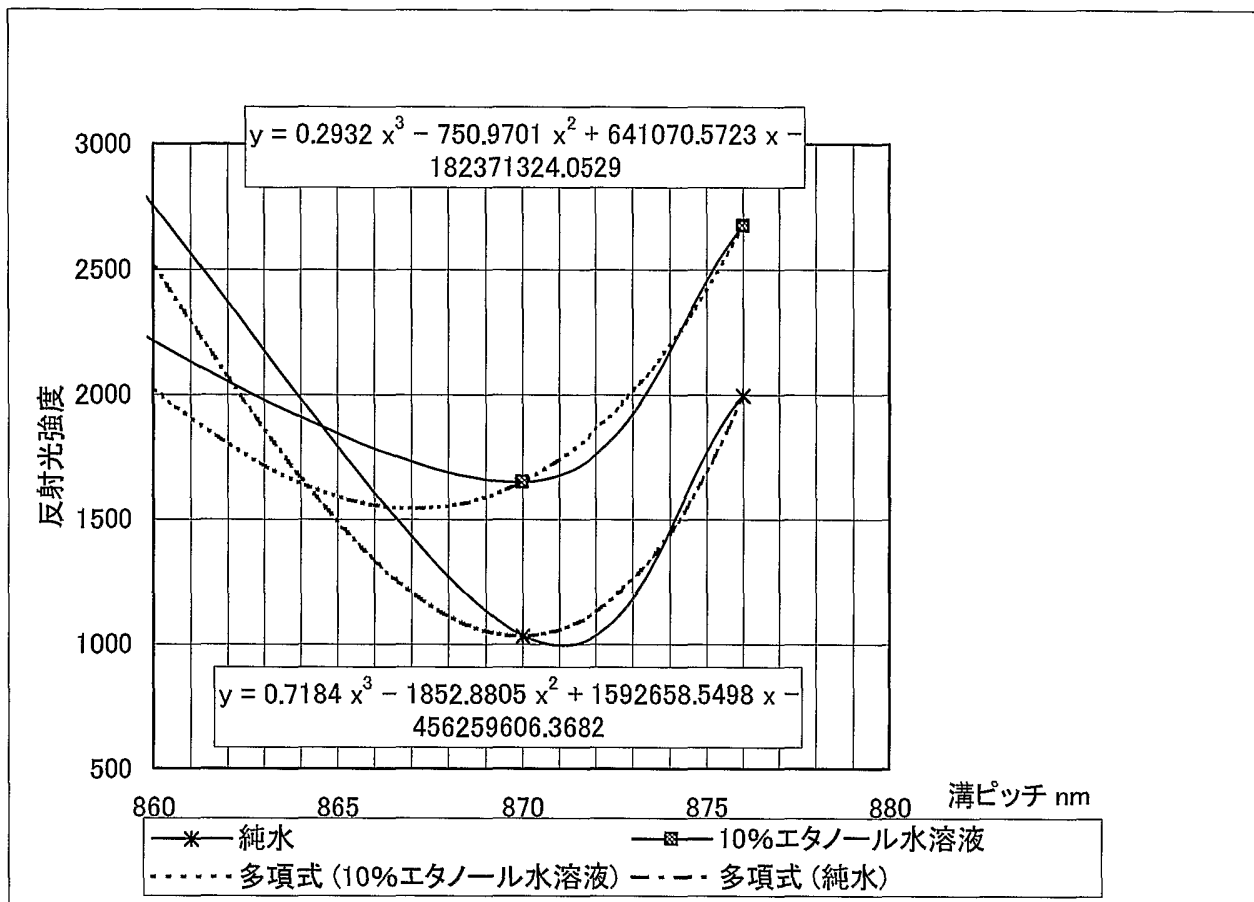


図 51

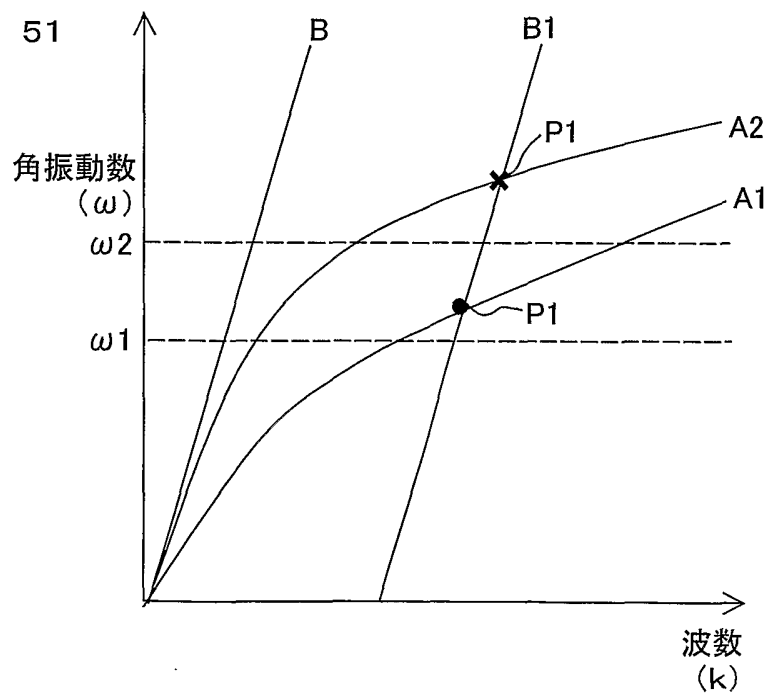


図 52(a)

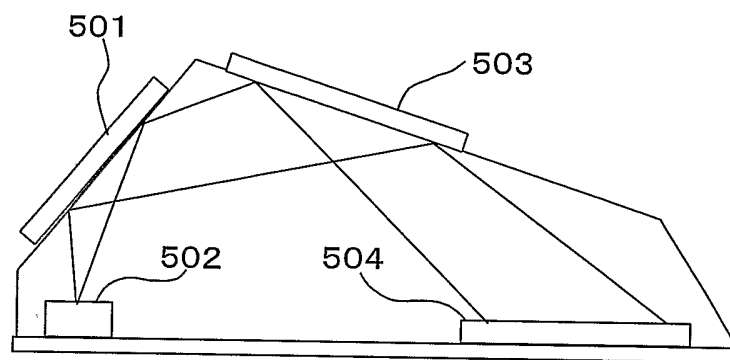
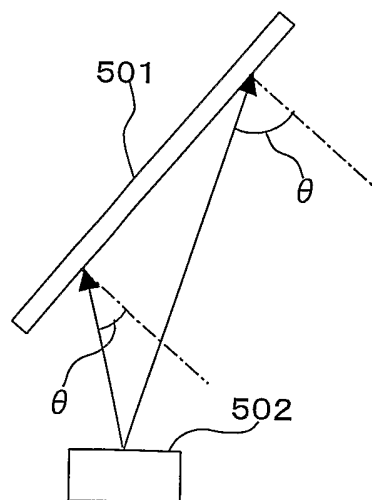


図 52(b)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/08091

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N21/27

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)

Int.Cl⁷ G01N21/00-21/61, G01N21/62-21/74

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2002
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2002	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2002

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

PATOLIS, EPAT, WPI/L

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 11-64216 A (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 05 March, 1999 (05.03.99), Full text (Family: none)	1-73
X	WO 99/66330 A (Imation Corp.), 23 December, 1999 (23.12.99), Full text & JP 2002-518679 A	72, 73
X	JP 5-346398 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 27 December, 1993 (27.12.93), Full text & US 5455178 A & EO 455067 A	72, 73

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" 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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 04 September, 2002 (04.09.02)	Date of mailing of the international search report 17 September, 2002 (17.09.02)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/08091

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 6-300683 A (F. Hoffmann-La Roche AG.), 28 October, 1994 (28.10.94), Full text & US 5479260 A & EP 617273 A	72, 73

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N21/27

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N21/00-21/61, G01N21/62-21/74

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2002年
日本国登録実用新案公報	1994-2002年
日本国実用新案登録公報	1996-2002年

国際調査で利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)

PATOLIS EPAT WPI/L

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 請求の範囲の番号
A	JP 11-64216 A(松下電器産業株式会社)1999.03.05 全文 (ファミリーなし)	1-73
X	WO 99/66330 A(イレイション・コーポレーション)1999.12.23全文 &JP 2002-518679 A	72, 73
X	JP 5-346398 A(エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・アーゲー)1993.12.27全文 &US 5455178 A, &EO 455067 A	72, 73
X	JP 6-300683 A(エフ・ホフマン・ラ・ロシュ・アーゲー)1994.10.28全文 &US 5479260 A, &EP 617273 A	72, 73

☐ 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

04.09.02

国際調査報告の発送日

17.09.02

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

樋口 宗彦



2W 9118

電話番号 03-3581-1101 内線 3250