

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015年12月23日(23.12.2015)



(10) 国際公開番号
WO 2015/194518 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2015/067222
- (22) 国際出願日: 2015年6月16日(16.06.2015)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2014-126282 2014年6月19日(19.06.2014) JP
- (71) 出願人: コニカミノルタ株式会社(KONICA MIN-OLTA, INC.) [JP/JP]; 〒1007015 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 藤代 一郎(FUJIYO, Ichiro), 野田 哲也(NODA, Tetsuya).
- (74) 代理人: 鷲田 公一(WASHIDA, Kimihito); 〒1600023 東京都新宿区西新宿1-2-3-7 新宿ファーストウエスト8階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: DETECTION DEVICE

(54) 発明の名称: 検出装置

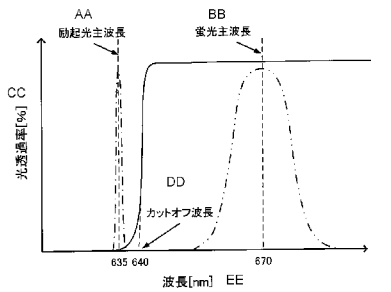


図5A

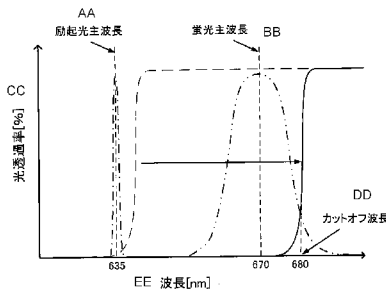


図5B

FIG. 5:
 AA Dominant excitation light wavelength
 BB Dominant fluorescence wavelength
 CC Optical transmittance (%)
 DD Cutoff wavelength
 EE Wavelength (nm)

(57) Abstract: A detection device is provided with a chip holder, a light source, a light-guide rod, a wavelength separation filter, and an optical sensor. The wavelength separation filter is disposed between a chip and the light-guide rod or between the light-guide rod and the optical sensor. Given the relationship between the angle of incidence and light intensity of fluorescence on a light reception surface of the optical sensor, the optical transmittance of the wavelength separation filter at the dominant wavelength of the rays of fluorescence incident on the light reception surface at a peak angle of incidence at which the light intensity is the highest is greater than the optical transmittance of the wavelength separation filter at the dominant wavelength of the rays of excitation light incident on the light reception surface at the peak angle of incidence and is higher than the optical transmittance of the wavelength separation filter at the dominant wavelength of the rays of fluorescence incident on the light reception surface at an angle of incidence of 0°.

(57) 要約: 検出装置は、チップホルダー、光源、導光ロッド、波長分離フィルターおよび光センサーを有する。波長分離フィルターは、チップおよび導光ロッドの間、または導光ロッドおよび光センサーの間に配置されている。光センサーの受光面における蛍光の入射角と光量との関係において、最も光量が多い入射角であるピーク入射角で受光面に入射する蛍光の光線に対する主波長における波長分離フィルターの光透過率は、ピーク入射角で受光面に入射する励起光の光線に対する主波長における波長分離フィルターの光透過率より大きく、かつ入射角が0°で受光面に入射する蛍光の光線に対する主波長における波長分離フィルターの光透過率より大きい。

WO 2015/194518 A1

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称： 検出装置

技術分野

[0001] 本発明は、被検出物質を標識する標識物質から放出される蛍光を検出することにより、前記被検出物質を検出する検出装置に関する。

背景技術

[0002] 臨床検査などにおいて、タンパク質やDNAなどの微量の被検出物質を高感度かつ定量的に検出することができれば、患者の状態を迅速に把握して治療を行うことが可能となる。このため、微量の被検出物質を高感度かつ定量的に検出できる検出装置が求められている。

[0003] 被検出物質を高感度に検出できる検出装置として、表面プラズモン共鳴蛍光分析（表面プラズモン励起増強蛍光分光法（Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy）：以下「SPFS」と略記する）を利用する装置が知られている（例えば、特許文献1参照）。

[0004] 特許文献1に記載の検出装置では、誘電体からなるプリズムと、プリズム上に形成された金属膜と、金属膜上に固定された捕捉体（たとえば抗体）とを有するセンサチップを使用する。金属膜上に被検出物質を含む検体を供給すると、被検出物質が捕捉体により捕捉される（1次反応）。捕捉された被検出物質は、さらに蛍光物質で標識される（2次反応）。この状態で、表面プラズモン共鳴が生じる角度で励起光を、プリズムを介して金属膜に照射すると、金属膜表面上に局在場光を発生させることができる。この局在場光により、金属膜上に捕捉された被検出物質を標識する蛍光物質が選択的に励起され、蛍光物質から放出された蛍光が観察される。この検出装置では、蛍光を検出して、被検出物質の存在またはその量を検出する。

[0005] このような検出装置では、微弱な蛍光を定量的に検出するために、光電子増倍管（Photomultiplier：PMT）やアバランシェフォトダイオード（APD）などの高感度な光センサーが用いられる。また、微弱な蛍光を高いSN

比で検出するために、干渉フィルターや色フィルターなどの波長分離フィルター（波長選択機能部材）が用いられる。さらに、蛍光の光路上における光センサーの前には、微弱な蛍光を集光する円柱状の導光部材が配置される。蛍光物質から放出された蛍光は、導光部材の一方の端面（入射面）で入射し、内部で反射を繰り返すことにより導かれ、他方の端面（出射面）で出射される。検出装置に含まれる波長分離フィルターでは、蛍光以外の各種ノイズ光が除去される。したがって、検出対象となる蛍光のみが光センサーの受光面に到達する。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2010/101052号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] しかしながら、特許文献1に記載の検出装置では、光センサーの受光面および波長分離フィルターにおける蛍光の入射角と光量との関係を考慮していない。このため、波長分離特性に角度依存性がある波長分離フィルターを使用した場合、光量が最も多い入射角で入射する光線に対して適切な波長分離を行うことができる波長分離フィルターを用いなければ、蛍光の大部分を除去してしまったり、蛍光以外の各種ノイズ光を十分に除去できなかつたりするおそれがある。この場合、蛍光の強度が低下する一方で各種ノイズ光の強度が上昇してしまい、SN比が低下してしまう。このように、特許文献1に記載の検出装置には、SN比を改善する余地がある。

[0008] 本発明の目的は、導光部材（導光ロッド）を有する検出装置であって、大型化せずに、蛍光を効率よく、かつ高いSN比で検出することができる検出装置を提供することである。

課題を解決するための手段

[0009] 上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る検出装置は、被検

出物質を標識した蛍光物質から放出される蛍光を検出することにより、前記被検出物質を検出する検出装置であって、前記被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定化された検出対象領域を含む検出チップを保持するチップホルダーと、前記チップホルダーに保持された前記検出チップに励起光を照射するための光源と、前記捕捉体に捕捉された前記被検出物質を標識した蛍光物質から放出される蛍光を、一端に位置する入射面で入射させ、他端に位置する出射面で出射させる導光ロッドと、前記導光ロッドの軸方向に対して垂直な受光面を有し、前記蛍光を検出するための光センサーと、前記検出チップおよび前記導光ロッドの間、または前記導光ロッドおよび前記光センサーの間に前記導光ロッドの軸方向に対して垂直に配置され、前記蛍光と前記蛍光以外の不要な光とを分離するための波長分離フィルターと、を有し、前記受光面における前記蛍光の入射角と光量との関係において、最も光量が多い入射角であるピーク入射角は 0° 以外であり、前記ピーク入射角で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率は、前記ピーク入射角で前記受光面に入射する前記励起光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率よりも大きく、かつ入射角が 0° で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率より大きい。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、装置を大型化せずに、蛍光を効率よく、かつ高いSN比で検出することができる検出装置を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0011] [図1]図1は、本発明の実施の形態に係る表面プラズモン増強蛍光測定装置の構成を示す図である。

[図2]図2は、検出対象領域、導光ロッドおよび光センサーの受光面の位置関係を示す図である。

[図3]図3Aは、導光ロッドへ入射する光線の入射角と屈折角を示す模式図であり、図3Bは、入射角および屈折角の関係を示すグラフである。

[図4]図4 A、Bは、導光ロッドを進行する蛍光の一部の光路を示す図である。

[図5]図5 A、Bは、波長と波長分離フィルターの光透過率との関係を示すグラフである。

[図6]図6は、光センサーの受光面における蛍光の入射角と光量との関係についてのシミュレーション結果を示す図である。

[図7]図7は、表面プラズモン増強蛍光測定装置の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[図8]図8 A、Bは、本発明の実施の形態の変形例に係る導光ロッドの斜視図である。

発明を実施するための形態

[0012] 以下、本発明の一実施の形態について、図面を参照して詳細に説明する。以下の説明では、本発明に係る検出装置の代表例として、表面プラズモン共鳴（SPR）を利用して、被検出物質を検出する表面プラズモン増強蛍光測定装置（以下「SPFS装置」ともいう）について説明する。

[0013] （SPFS装置の構成）

SPFS装置は、誘電体からなるプリズムと、プリズムの1面上に形成された金属膜とを有する検出チップが装着された状態で使用される。金属膜上には、被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定されている。金属膜上に被検出物質を含む検体を提供すると、被検出物質が捕捉体により捕捉される。このとき、被検出物質は、蛍光物質で標識されていてもよいし、標識されていなくてもよい。捕捉された被検出物質が蛍光物質で標識されていない場合、捕捉された被検出物質は、さらに蛍光物質で標識される。この状態で、表面に金属膜を有するプリズムに対して全反射条件となるように励起光を照射する。これにより、励起光および金属膜中の自由電子の相互作用（表面プラズモン共鳴）が生じ、局在場光が発生する。一般にこの局在場光は、「増強電場」または「増強されたエバネッセント光」とも呼ばれ、金属膜の表面近傍の物理量変動を測定することが可能である。この局在場光により、金属膜

上に捕捉された被検出物質を標識する蛍光物質が選択的に励起され、蛍光物質から放出された蛍光が観察される。SPFS装置は、蛍光の光量を測定して、被検出物質の存在またはその量を検出する。

[0014] 図1は、本発明の一実施の形態に係るSPFS装置100の構成を示す図である。図1に示されるように、SPFS装置100は、検出チップ10を着脱可能に保持するためのチップホルダー110と、検出チップ10に励起光 α を照射するための励起光学系ユニット120と、検出チップ10から放出された光（プラズモン散乱光 β または蛍光 γ ）を検出するための受光光学系140と、これらを制御する制御部160とを有する。SPFS装置100は、チップホルダー110に検出チップ10を装着した状態で使用される。そこで、検出チップ10について先に説明し、その後にSPFS装置100の各構成要素について説明する。

[0015] 図1に示されるように、検出チップ10は、入射面21、成膜面22および出射面23を有するプリズム20と、成膜面22上に形成された金属膜30と、成膜面22上または金属膜30上に配置された流路蓋40とを有する。通常、検出チップ10は、検出（分析）のたびに交換される。

[0016] プリズム20は、励起光 α に対して透明な誘電体からなる。プリズム20は、入射面21、成膜面22および出射面23を有する。入射面21は、励起光学系ユニット120からの励起光 α をプリズム20の内部に入射させる。成膜面22の上には、金属膜30が形成される。プリズム20の内部に入射した励起光 α は、金属膜30で反射する。より具体的には、プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22）で反射する。出射面23は、金属膜30で反射した励起光 α をプリズム20の外部に出射させる。プリズム20の形状は、特に限定されない。本実施の形態では、プリズム20の形状は、台形を底面とする柱体である。台形の一方の底辺に対応する面が成膜面22であり、一方の脚に対応する面が入射面21であり、他方の脚に対応する面が出射面23である。底面となる台形は、等脚台形であることが好ましい。これにより、入射面21と出射面23とが対称になり、励起光 α のS波成分が

プリズム20内に滞留しにくくなる。入射面21は、励起光 α が励起光学系ユニット120に戻らないように形成される。励起光 α が励起光源であるレーザーダイオードに戻ると、レーザーダイオードの励起状態が乱れてしまい、励起光 α の波長や出力が変動してしまうからである。そこで、理想的な増強角を中心とする走査範囲において、励起光 α が入射面21に垂直に入射しないように、入射面21の角度が設定される。たとえば、入射面21と成膜面22との角度および成膜面22と出射面23との角度は、いずれも約80°である。プリズム20の材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。プリズム20の材料は、好ましくは、屈折率が1.4~1.6であり、かつ複屈折が小さい樹脂である。

[0017] 金属膜30は、プリズム20の成膜面22上に形成されている。金属膜30を設けることで、成膜面22に全反射条件で入射した励起光 α の光子と、金属膜30中の自由電子との間で相互作用（表面プラズモン共鳴；SPR）が生じ、金属膜30の表面上に局在場光を生じさせることができる。金属膜30の素材は、表面プラズモン共鳴を生じさせる金属であれば特に限定されない。金属膜30の素材の例には、金、銀、銅、アルミ、これらの合金が含まれる。本実施の形態では、金属膜30は、金薄膜である。金属膜30の形成方法は、特に限定されない。金属膜30の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、メッキが含まれる。金属膜30の厚みは、特に限定されないが、30~70nmの範囲内が好ましい。

[0018] また、特に図示しないが、金属膜30のプリズム20と対向しない面には、被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定されている。捕捉体を固定することで、被検出物質を選択的に検出することが可能となる。このように金属膜30の表面の少なくとも一部は、検出対象領域31として設定される。本実施の形態では、金属膜30表面の中央部分が検出対象領域31として設定されている。検出対象領域31には、捕捉体が均一に固定されている。ここで「検出対象領域」とは、被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定化された領域をいう。捕捉体の種類は、被検出物質を捕捉することができれば特に

限定されない。たとえば、捕捉体は、被検出物質に特異的に結合可能な抗体またはその断片である。

[0019] 流路蓋40は、金属膜30のプリズム20と対向しない面上に、流路41を挟んで配置されている。流路蓋40は、流路41を挟んで成膜面22上に配置されていてもよい。流路蓋40は、金属膜30（およびプリズム20）と共に、検体や蛍光標識液、洗浄液などの液体が流れる流路41を形成する。検出対象領域31は、流路41内に露出している。流路41の両端は、流路蓋40の上面に形成された注入口および排出口（いずれも図示省略）とそれぞれ接続されている。流路41内へ液体が注入されると、流路41内において、これらの液体は検出対象領域31の捕捉体に接触する。流路蓋40は、金属膜30の検出対象領域31から放出された光（プラズモン散乱光 β および蛍光 γ ）に対して透明な材料からなる。流路蓋40の材料の例には、樹脂が含まれる。これらの光を受光光学系140に導くことができれば、流路蓋40の一部は、不透明な材料で形成されていてもよい。流路蓋40は、例えば、両面テープまたは接着剤による接着や、レーザー溶着、超音波溶着、クランプ部材を用いた圧着などにより金属膜30またはプリズム20に接合されている。

[0020] 図1に示されるように、プリズム20へ導かれた励起光 α は、入射面21でプリズム20内に入射する。プリズム20内に入射した励起光 α は、プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22）に全反射角度（表面プラズモン共鳴が生じる角度）となるように入射する。界面からの反射光は、出射面23でプリズム20外に出射される（図示省略）。一方、表面プラズモン共鳴が生じる角度で励起光 α が界面に入射することで、検出対象領域31からは、プラズモン散乱光 β や蛍光 γ などが、受光光学系140の方向へ出射される。

[0021] 次に、SPFS装置100の各構成要素について説明する。前述のとおり、SPFS装置100は、チップホルダー110、励起光学系ユニット120、受光光学系140および制御部160を有する。

- [0022] チップホルダー110は、所定の位置で検出チップ10を保持する。検出チップ10は、チップホルダー110に保持された状態で、励起光学系ユニット120からの励起光 α を照射される。このとき、検出対象領域31からは、励起光 α と同一波長のプラズモン散乱光 β や蛍光物質から放出された蛍光 γ などが上方に放出される。また、励起光 α は、プリズム20と金属膜30との界面で反射して、プリズム20の外部に出射される（図示省略）。
- [0023] 励起光学系ユニット120は、励起光 α を出射する光源ユニット121と、プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22）に対する励起光 α の入射角を調整する角度調整部122を有する。
- [0024] 光源ユニット121は、励起光源としてレーザーダイオード（以下「LD」ともいう）を有し、チップホルダー110に保持された検出チップ10のプリズム20の入射面21に向けて励起光 α （シングルモードレーザー光）を出射する。より具体的には、光源ユニット121は、検出チップ10のプリズム20側から捕捉体が固定されている領域に対応した金属膜30の裏面に、励起光 α を全反射角度となるように出射する。たとえば、光源ユニット121は、LDユニット、整流器および整形光学系（いずれも図示省略）を有する。
- [0025] LDユニットは、コリメートされ、かつ波長および光量が一定の励起光 α を、プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22）における照射スポットの形状が略円形となるように出射する。LDユニットは、励起光源としてのLDと、LDから出射された励起光 α をコリメートするコリメーターと、励起光 α の光量を一定にするための温度調整回路とを有する。LDから出射される励起光 α は、コリメートされてもその輪郭形状が扁平である。このため、界面（成膜面22）における照射スポットの形状が略円形となるように、LDは所定の姿勢で保持されるか、または後述の整形光学系に所定形状のスリットが挿入される。また、LDから出射される励起光 α の波長および光量は、温度によって変化する。このため、温度調整回路は、コリメートされた後の励起光 α から分岐させた光の光量をフォトダイオードなどにより監視

し、励起光 α の波長および光量が一定となるようにヒーターやペルチェ素子などを用いてLDの温度を調整する。

[0026] 整波器は、バンドパスフィルター（以下「BPF」ともいう）および直線偏光フィルター（以下「LP」ともいう）を含み、LDユニットから出射された励起光 α を整波する。LDユニットからの励起光 α は、若干の波長分布幅を有しているため、BPFは、LDユニットからの励起光 α を中心波長のみの狭帯域光にする。また、LDユニットからの励起光 α は、完全な直線偏光ではないため、LPは、LDユニットからの励起光 α を完全な直線偏光の光にする。整波器は、金属膜30にP波成分が入射するように励起光 α の偏光方向を調整する半波長板を含んでいてもよい。

[0027] 整形光学系は、プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22）における照射スポットの形状が所定サイズの円形となるように、励起光 α のビーム径や輪郭形状などを調整する。整形光学系から出射された励起光 α は、検出チップ10のプリズム20に照射される。整形光学系は、例えばスリットやズーム手段などである。金属膜30の一方の面（プリズム20と対向する面）における励起光 α の照射スポットの大きさは、金属膜30の他方の面（導光ロッド141と対向する面）における検出対象領域31よりも小さくなるように調整される。このようにすることで、プリズム20の各パラメータの誤差により照射スポットがわずかに位置ずれした場合であっても、照射スポットが検出対象領域31から外れることを防止できる。

[0028] なお、光源ユニット121に含まれる光源の種類は、特に限定されず、LDでなくてもよい。光源の例には、発光ダイオード、水銀灯、その他のレーザー光源が含まれる。光源から出射される光がビームでない場合は、光源から出射される光は、レンズや鏡、スリットなどによりビームに変換される。また、光源から出射される光が単色光でない場合は、光源から出射される光は、回折格子などにより単色光に変換される。さらに、光源から出射される光が直線偏光でない場合は、光源から出射される光は、偏光子などにより直線偏光の光に変換される。

- [0029] 角度調整部 122 は、金属膜 30（プリズム 20 と金属膜 30 との界面（成膜面 22））への励起光 α の入射角を調整する。角度調整部 122 は、励起光 α を金属膜 30（成膜面 22）の所定の位置（検出対象領域 31 の裏側）に所定の入射角で照射させるために、励起光 α の光軸とチップホルダー 110 とを相対的に回転させる。本実施の形態では、角度調整部 122 は、光源ユニット 121 を励起光 α の光軸と直交する軸を中心として回転させる。このとき、入射角を走査しても金属膜 30（成膜面 22）上での照射位置がほとんど移動しないように、回転軸の位置を設定する。たとえば、回転中心の位置を、入射角の走査範囲の両端における 2 つの励起光 α の光軸の交点近傍（成膜面 22 上の照射位置とプリズム 20 の入射面 21 との間）に設定することで、照射位置のズレを極小化することができる。
- [0030] 受光光学系 140 は、チップホルダー 110 に保持された検出チップ 10 の金属膜 30 のプリズム 20 と対向しない面（検出対象領域 31）に対向するように配置されている。受光光学系 140 は、金属膜 30 上から出射される光（プラズモン散乱光 β または蛍光 γ ）を検出する。受光光学系 140 は、導光ロッド 141、波長分離フィルター 144 および光センサー 145 を有する。
- [0031] 導光ロッド 141 は、入射面 142 および出射面 143 を有する。導光ロッド 141 は、透光性を有し、検出対象領域 31（金属膜 30 およびその近傍）から放出された光（プラズモン散乱光 β または蛍光 γ ）を光センサー 145 に導く。本実施の形態に係る SPFS 装置 100 は、導光ロッド 141 が所定の形状および大きさに形成されている。導光ロッド 141 の詳細は、後述する。
- [0032] 波長分離フィルター 144 は、所定の波長領域の光を透過させ、それ以外の波長領域の光を遮断する（波長分離特性）。波長分離フィルター 144 は、例えばロングパスフィルターまたはバンドパスフィルターである。本実施の形態では、波長分離フィルター 144 は、ロングパスフィルターである。波長分離フィルター 144 は、励起光 α の波長の光（プラズモン散乱光 β ）

を遮断する一方で、蛍光 γ のみを透過させることが好ましい。この後説明するように、波長分離フィルター144の波長分離特性は、角度依存性を有する。

[0033] 波長分離フィルター144は、チップホルダー110（検出チップ10）および導光ロッド141の間、または導光ロッド141および光センサー145の間に導光ロッド141の軸方向に対して垂直に配置されている。本実施の形態では、波長分離フィルター144は、導光ロッド141および光センサー145の間に配置されている。ここで、「導光ロッド141の軸方向」とは、導光ロッド141の入射面142の重心から出射面143の重心に向かう方向をいう。特に図示しないが、波長分離フィルター144は、フィルター制御部164により受光光学系140の光路内と、光路外との間を移動可能に構成されている。

[0034] 波長分離フィルター144の種類は、蛍光 γ を透過し、蛍光 γ 以外の不要な光を分離することができ、かつフィルターの波長分離特性が角度依存性を有するものであれば特に限定されない。フィルターの波長分離特性が角度依存性を有する波長分離フィルター144の例には、1または2以上の誘電体多層膜を含む干渉フィルターが含まれる。波長分離フィルター144の詳細は、後述する。

[0035] 光センサー145は、検出対象領域31から放出される光（蛍光 γ またはプラズモン散乱光 β ）を検出する。光センサー145は、導光ロッド141の軸方向に垂直な受光面146を有する。光センサー145は、導光ロッド141により導かれ、受光面146に到達した光を検出する。光センサー145の種類は、微弱な蛍光 γ を検出することができれば特に限定されない。光センサー145の種類は、例えば感度およびSN比が高い光電子増倍管やアバランシェ・フォトダイオード（APD）などである。

[0036] 制御部160は、各駆動部の制御や、光センサー145における受光量の定量化などを一元的に行う。本実施の形態では、制御部160は、光源ユニット121を制御する光源制御部161と、光センサー145を制御する光

センサー制御部162と、フィルター移動部（図示省略）を制御するフィルター制御部164と、制御処理部163とを有する。制御処理部163は、光源制御部161、光センサー制御部162およびフィルター制御部164を包括的に制御して、SPFS装置100全体の動作を制御する。制御部160は、例えばソフトウェアを実行するコンピュータである。

[0037] （導光ロッドの構成）

次に、導光ロッド141について詳細に説明する。図2は、検出対象領域31、導光ロッド141および光センサー145の受光面146の位置関係を示す図である。

[0038] 導光ロッド141は、透光性を有し、検出対象領域31から放出された光（プラズモン散乱光 β または蛍光 γ ）を一端に位置する入射面142で入射させ、他端に位置する出射面143で出射させて光センサー145に導く。導光ロッド141の形状は、検出対象領域31から放出された光を光センサー145に導くことができれば特に限定されない。本実施の形態では、導光ロッド141の形状は、導光ロッド141の軸方向に直交する断面において、入射面142から出射面143に向かってその断面積が一定である円柱状である。導光ロッド141の材料は、検出対象領域31から放出したプラズモン散乱光 β または蛍光 γ を光センサー145に導くことができれば、特に限定されない。導光ロッド141の材料の例には、透明な樹脂および透明なガラスが含まれる。また、導光ロッド141の屈折率は、特に限定されないが、1.4～2.0程度であることが好ましい。また、導光ロッド141の側面には、導光ロッド141の入射面142で入射した蛍光 γ の漏洩を防止するための反射膜が形成されていてもよい。反射膜は、例えばアルミニウムや金などの蒸着膜である。

[0039] 図2に示されるように、導光ロッド141の入射面142は、円柱における一方の端面（底面）であり、金属膜30の表面（検出対象領域31）に対向して配置されている。導光ロッド141の入射面142と検出対象領域31との間隔は、0.5～5.0mm程度である。導光ロッド141の入射面

142の直径Dは、検出対象領域31の最大長さD'より長い。これにより、検出対象領域31から放出された蛍光 γ を効率的に導光ロッド141に入射させることができる。ここで「検出対象領域の最大長さ」とは、検出対象領域31の外縁部上の2点を両端とする線分のうち最も長い線分の長さをいう。たとえば、検出対象領域31が円形であった場合、検出対象領域31の最大長さD'は直径である。また、検出対象領域31が矩形であった場合、検出対象領域31の最大長さD'は対角線の長さである。

[0040] 出射面143は、円柱における他方の端面（底面）であり、光センサー145の受光面146（またはその手前に配置された波長分離フィルター144）に対向して配置されている。出射面143と光センサー145の受光面146との間隔は、0.5～5.0mm程度である。導光ロッド141の出射面143の直径Dは、光センサー145の受光面146の最大長さD"より短いことが好ましい。なお、「受光面の最大長さ」とは、光センサー145の受光面146の外縁部上の2点を両端とする線分のうち最も長い線分の長さを意味する。

[0041] 次に、導光ロッド141内を進行する光の光路について説明する。図3Aは、導光ロッド141に入射する光線の入射角 θ_1 と、屈折角 θ_2 を示す模式図である。図3Bは、入射角 θ_1 と屈折角 θ_2 との関係を示すグラフである。

[0042] 図3Aに示されるように、屈折率 n_1 の媒質（空気層）から屈折率 n_2 の媒質（導光ロッド141）へ光が入射した時の入射角を θ_1 、屈折角を θ_2 とした場合、 $n_1 \times \sin \theta_1 = n_2 \times \sin \theta_2$ が成り立つことが知られている（スネルの法則）。

[0043] このスネルの法則を用いて、屈折率 n_2 が1.4、1.5、1.6、1.7、1.8または2.0の各導光ロッド141において、入射角 θ_1 を0～90°まで変化させた場合の屈折角 θ_2 をそれぞれ求めた。各導光ロッド141における入射角 θ_1 と屈折角 θ_2 との関係を図3Bに示す。図3Bにおいて、最も上の曲線（細い実線）は、屈折率 n_2 が1.4の導光ロッド14

1を用いた場合の結果を示している。上から2番目の曲線（太い実線）は、屈折率 n_2 が1.5の導光ロッド141を用いた場合の結果を示している。上から3番目の曲線（細い破線）は、屈折率 n_2 が1.6の導光ロッド141を用いた場合の結果を示している。上から4番目の曲線（太い破線）は、屈折率 n_2 が1.7の導光ロッド141を用いた場合の結果を示している。上から5番目の曲線（細い一点鎖線）は、屈折率 n_2 が1.8の導光ロッド141を用いた場合の結果を示している。上から6番目の曲線（太い一点鎖線）は、屈折率 n_2 が1.9の導光ロッド141を用いた場合の結果を示している。最も下の曲線（太い二点鎖線）は、屈折率 n_2 が2.0の導光ロッド141を用いた場合の結果を示している。

[0044] 図3Bに示されるように、入射角 θ_1 が大きくなるにつれて、屈折角 θ_2 の変化率が小さくなることがわかる。このとき、屈折率 n_2 が1.4~2.0の範囲内である導光ロッド141では、屈折角 θ_2 の最大角度は 45° であり、屈折角 θ_2 が 30° ~ 45° の範囲内で光線密度が増加することがわかる。また、導光ロッド141の屈折率 n_2 が大きくなるにつれて、屈折角 θ_2 が小さくなることがわかる。

[0045] 図4は、導光ロッド141内を進行する一部の蛍光 γ の光路を示す図である。図4Aは、蛍光 γ の入射位置の違いによる導光ロッド141における蛍光 γ の光路の違いを示す図であり、図4Bは、導光ロッド141の屈折率 n_2 の違いによる導光ロッド141における蛍光 γ の光路の違いを示す図である。

[0046] ここでは、光線密度が大きい、屈折角 θ_2 が 45° の蛍光 γ の光路について考察する。図4Aの実線矢印は、導光ロッド141の入射面142の中心で入射した蛍光 γ の光路を示している。破線矢印は、導光ロッド141の入射面142の中心でない位置で入射した蛍光 γ の光路を示している。図4Aの実線矢印に示されるように、導光ロッド141の入射面142の中心で入射し、屈折角 θ_2 が 45° の蛍光 γ は、入射面142の直径を D とした場合、入射面142から D 離れた位置で径方向の中心を通過することがわかる。

また、図4 Aの破線矢印に示されるように、導光ロッド141の入射面142の中心からずれた位置で入射し、屈折角 θ_2 が 45° の蛍光 γ は、入射面142の直径をDとした場合、入射面142からD離れた位置の近傍で径方向の中心を通過することがわかる。

[0047] 次に、導光ロッド141の屈折率 n_2 の違いによる導光ロッド141の入射面142の中心で入射した蛍光 γ の光路について考察する。図4 Bの実線矢印は、屈折率 n_2 が1.4の導光ロッド141を進行する蛍光 γ の光路を示している。破線矢印は、屈折率 n_2 が1.8の導光ロッド141を進行する蛍光 γ の光路を示している。

[0048] 図4 Bの実線矢印に示されるように、屈折率 n_2 が1.4の導光ロッド141の入射面142の中心で入射し、屈折角 θ_2 が 45° の蛍光 γ は、入射面142の直径をDとした場合、入射面142からD離れた位置で径方向の中心を通過することがわかる。また、図4 Bの破線矢印に示されるように、屈折率 n_2 が1.8の導光ロッド141の入射面142の中心で入射した蛍光 γ は、入射面142の直径をDとした場合、入射面142からDより離れた位置で径方向の中心を通過することがわかる。これにより、同じ屈折角 θ_2 の蛍光 γ であっても、導光ロッド141の屈折率 n_2 が大きくなるほど、導光ロッド141の入射面142から離れた位置で径方向の中心を通過することがわかる。

[0049] したがって、本実施の形態に係るSPFS装置100の導光ロッド141は、式(1)を満たすように、導光ロッド141の屈折率 n_2 および導光ロッド141の直径Dに基づいて、軸方向の長さLが規定されている。これにより、導光ロッド141を進行する蛍光 γ を径方向の中心付近に集めることができる。

$$0.8n_2D < L < 1.2n_2D \quad \dots (1)$$

[0050] 導光ロッド141の出射面143で出射した蛍光 γ は、光センサー145の受光面146に到達する。このとき、受光面146における蛍光 γ の入射角と光量との関係において、最も光量が多くなる入射角をピーク入射角とい

う。前述のとおり、導光ロッド141内では、屈折角 θ_2 が $30\sim 45^\circ$ の範囲内で光線密度が増加する。このため、導光ロッド141の出射面143において最も光量が多くなる出射角は、 0° 以外の所定の角度（例えば 35° ）となり、光センサー145の受光面146におけるピーク入射角も、 0° 以外の所定の角度（例えば 35° ）となる。また、前述のとおり、波長分離フィルター144と、光センサー145の受光面146とは、ともに導光ロッド141の軸方向に対して垂直に配置されている。したがって、導光ロッド141の出射面143で出射し、波長分離フィルター144に入射する光線の入射角と、波長分離フィルター144を通過し、光センサー145の受光面146に入射する光線の入射角とは、同じである。すなわち、波長分離フィルター144におけるピーク入射角も、 0° 以外の所定の角度（例えば 35° ）となる。

[0051] （波長分離フィルターの波長分離特性）

次に、本実施の形態で使用する波長分離フィルター144の波長分離特性について説明する。図5は、本実施の形態で使用する波長分離フィルター144（ロングパスフィルター）の波長分離特性の角度依存性を説明するための図である。図5Aは、ピーク入射角（例えば 35° ）で入射する光線に対する波長分離フィルター144の波長分離特性を示す図であり、図5Bは、入射角が 0° で入射する光線に対する波長分離フィルター144の波長分離特性を示す図である。図5Aおよび図5Bにおいて、実線は、入射角がピーク入射角（ 35° ）の光線に対するカットオフ波長が 640 nm であり、入射角が 0° の光線に対するカットオフ波長が 680 nm である波長分離フィルター144の光透過率を示す。また、一点鎖線は、主波長が 635 nm である励起光 α のスペクトルを示し、二点鎖線は、主波長が 670 nm である蛍光 γ のスペクトルを示す。ここで、「励起光」とは、励起光 α だけでなく励起光 α と同じ波長の光（プラズモン散乱光 β ）を含むものとする。

[0052] 図5Aに示されるように、波長分離フィルター144のカットオフ波長（ 640 nm ）は、ピーク入射角（ 35° ）で入射する励起光 α の主波長（ 6

35 nm) とピーク入射角 (35°) で入射する蛍光 γ の主波長 (670 nm) との間に位置する。すなわち、ピーク入射角 (35°) で入射する蛍光 γ の光線に対する主波長 (670 nm) における波長分離フィルター 144 の光透過率は、ピーク入射角 (35°) で入射する励起光 α の光線に対する主波長 (635 nm) における波長分離フィルター 144 の光透過率よりも大きい。これにより、波長分離フィルター 144 は、ピーク入射角 (35°) で入射する光線に対して、蛍光 γ を選択的に透過させ、励起光 α の大部分を遮断する。したがって、前述のとおり、波長分離フィルター 144 への光線の入射角と、光センサー 145 の受光面 146 への光線の入射角とは同じなので、波長分離フィルター 144 は、光センサー 145 の受光面 146 にピーク入射角 (35°) で入射する蛍光 γ の大部分を選択的に透過させることができる。

[0053] 一方、図 5 B に示されるように、ピーク入射角 (35°) で入射する光線に対する場合と比較して、入射角が 0° で入射する光線に対する波長分離フィルター 144 のカットオフ波長 (680 nm) は、長波長側にシフトしている。本実施の形態で使用する波長分離フィルター 144 (ロングパスフィルター) では、約 40 nm 長波長側にシフトすることがわかっている。この結果、波長分離フィルター 144 は、励起光 α をより確実に遮断することができる。励起光 α の主波長と蛍光 γ の主波長との間隔が小さい場合、波長分離フィルター 144 は、励起光 α を遮断するだけでなく、蛍光 γ の一部を遮断するおそれがある。しかし、励起光 α をより確実に遮断することによって、SN 比を向上させることができる。

[0054] このように、本実施の形態で使用する波長分離フィルター 144 の波長分離特性は、角度依存性を有し、入射角がピーク入射角 (35°) で入射する光線に対して最適化されている。すなわち、ピーク入射角で入射する蛍光 γ の光線に対する主波長における波長分離フィルター 144 の光透過率 (以下、「 T_t 」ともいう) は、入射角が 0° で入射する蛍光 γ の光線に対する主波長における波長分離フィルター 144 の光透過率 (以下、「 T_0 」ともいう)

より大きい ($T_t > T_0$)。したがって、前述のとおり、効率およびSN比を向上させることができる。

[0055] また、SN比をより向上させる観点から、カットオフ波長が励起光 α の主波長に対してより長波長側にある波長分離フィルター144を使用してもよい。蛍光 γ の透過率が減少したとしても、励起光 α をより確実に遮断することでSN比の向上が期待できるからである。たとえば、 $T_0/T_t \leq 1/5$ であることが好ましい。

[0056] (シミュレーション)

本実施の形態に係るSPFS装置100において、光センサー145の受光面146における蛍光 γ の入射角と光量との関係についてシミュレーションを行った。流路41内の検出対象領域31から受光面146までの光路上には、流路蓋40、導光ロッド141、波長分離フィルター144および光センサー145が、検出対象領域31側から順番に配置されている。また、導光ロッド141の出射面143で出射した光は、波長分離フィルター144を通過したあと、センサー窓を通過して受光面146に到達する。シミュレーションのための各パラメータは、流路蓋40の高さ：0.1mm、流路蓋40(PMMA)の屈折率：1.49、検出対象領域31の最大長さ D' ：3.0mm、導光ロッド141の軸方向の長さ：16.0mm、導光ロッド141の直径 D ：14.0mm、導光ロッド141の屈折率 n ：1.514、検出対象領域31および導光ロッド141の入射面142の間隔：0.6mm、導光ロッド141の軸方向での波長分離フィルターの長さ(厚み)：1.0mm、波長分離フィルター144の屈折率：1.514、導光ロッド141の軸方向でのセンサー窓の長さ(厚み)：0.8mm、センサー窓(ホウケイ酸ガラス)の屈折率：1.487、波長分離フィルター144およびセンサー窓の間隔：0.5mm、受光面146の最大長さ：8.0mmとした。

[0057] 図6は、光センサー145の受光面146における蛍光 γ の入射角と光量との関係についてのシミュレーション結果を示す図である。図6に示される

ように、検出対象領域31から放出された蛍光 γ は、入射角が 35° 近傍で受光面146に入射するとき、最も光量が多くなることがわかる。したがって、この場合は、入射角が 35° （ピーク入射角）で受光面146に入射する蛍光 γ の光線に対する主波長における波長分離フィルター144の光透過率（ T_t ）が、入射角が 35° で受光面146に入射する励起光の光線に対する主波長における波長分離フィルター144の光透過率よりも大きく、かつ入射角が 0° で受光面146に入射する蛍光 γ の光線に対する主波長における波長分離フィルター144の光透過率（ T_0 ）より大きくなるように、波長分離フィルター144は選択される。具体的には、入射角が 35° で波長分離フィルター144に入射する蛍光 γ の光線に対する主波長における波長分離フィルター144の光透過率が、入射角が 35° で波長分離フィルター144に入射する励起光の光線に対する主波長における波長分離フィルター144の光透過率よりも大きく、かつ入射角が 0° で波長分離フィルター144に入射する蛍光 γ の光線に対する主波長における波長分離フィルター144の光透過率より大きくなるように、波長分離フィルター144は選択される。これにより、波長分離フィルター144は、ピーク入射角で受光面146に入射する光線に対して、励起光 α を遮断し、蛍光 γ を選択的に透過させることができる。その一方で、波長分離フィルター144は、入射角が 0° で受光面146に入射する光線に対して、蛍光 γ の一部を遮断するおそれがあるものの、励起光 α もより確実に遮断することができる。この結果として、本実施の形態に係るSPFS装置100は、蛍光 γ を効率よく、かつ高いSN比で検出することができる。

[0058] （SPFS装置の動作）

次に、SPFS装置100の動作（SPFS装置100を用いた検出方法）について説明する。図7は、SPFS装置の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[0059] まず、測定の準備をする（工程S10）。具体的には、SPFS装置100の所定の位置に被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定化された検出対

象領域 31 を含む検出チップ 10 を設置する。また、検出チップ 10 の流路 41 内に保存試薬が存在する場合は、捕捉体が適切に被検出物質を捕捉できるように、流路 41 内を洗浄して保存試薬を除去する。

[0060] 次いで、検体中の被検出物質と捕捉体とを反応させる（1次反応、工程 S20）。具体的には、流路 41 内に検体を注入して、検体と捕捉体とを接触させる。検体中に被検出物質が存在する場合は、被検出物質の少なくとも一部は捕捉体により捕捉される。この後、流路 41 内を緩衝液などで洗浄して、捕捉体に捕捉されなかった物質を除去する。検体の種類は、特に限定されない。検体の例には、血液や血清、血漿、尿、鼻孔液、唾液、精液などの体液およびその希釈液が含まれる。

[0061] 次いで、励起光 α を金属膜 30（成膜面 22）の所定の位置に照射しながら、金属膜 30（成膜面 22）に対する励起光 α の入射角を走査して、最適な入射角を決定する（工程 S30）。具体的には、制御処理部 163 は、光源ユニット 121 および角度調整部 122 を制御して、励起光 α を金属膜 30（成膜面 22）の所定の位置に照射しながら、金属膜 30（成膜面 22）に対する励起光 α の入射角を走査する。また、制御処理部 163 は、光センサー 145 が検出対象領域 31 からのプラズモン散乱光 β を検出するように、フィルター制御部 164 を制御して、波長分離フィルター 144 を受光光学系 140 の光路外に移動させるとともに、プラズモン散乱光 β を検出するように、光センサー制御部 162 を制御する。検出対象領域 31 からのプラズモン散乱光 β は、導光ロッド 141 を介して光センサー 145 に到達する。これにより、制御処理部 163 は、励起光 α の入射角とプラズモン散乱光 β の強度との関係を含むデータを得る。そして、制御処理部 163 は、データを解析して、プラズモン散乱光 β の強度が最大となる入射角（増強角）を決定する。なお、増強角は、基本的には、プリズム 20 の素材および形状、金属膜 30 の厚み、流路 41 内の液体の屈折率などにより決まるが、流路 41 内の蛍光物質の種類および量、プリズム 20 の形状誤差などの各種要因によりわずかに変動する。このため、分析を行うたびに増強角を決定すること

が好ましい。増強角は、 0.1° 程度のオーダーで決定される。

[0062] 次いで、金属膜30（成膜面22）に対する励起光 α の入射角を、前の工程で決定した増強角に設定する（工程S40）。具体的には、制御処理部163は、角度調整部122を制御して、金属膜30（成膜面22）に対する励起光 α の入射角を増強角に設定する。以後の工程では、金属膜30（成膜面22）に対する励起光 α の入射角は、増強角のままである。

[0063] 次いで、励起光 α を金属膜30（成膜面22）に照射して、蛍光 γ と同じ波長の光の強度（光学ブランク値）を測定する（工程S50）。具体的には、制御処理部163は、フィルター移動部を制御するフィルター制御部164を制御して、波長分離フィルター144を受光光学系140の光路上に移動させる。ついで、制御処理部163は、光源制御部161を制御して、光源ユニット121に励起光 α を出射させる。同時に、制御処理部163は、光センサー145が蛍光 γ と同じ波長の光の強度を検出するように、光センサー制御部162を制御する。よって、光センサー145は、正確にノイズとなる光の強度（光学ブランク値）を測定することができる。測定値は、制御処理部163に送信され、光学ブランク値として記録される。

[0064] 次いで、捕捉体に捕捉された被検出物質を蛍光物質で標識する（2次反応、工程S60）。具体的には、流路41内に蛍光標識液を注入する。蛍光標識液は、例えば、蛍光物質で標識された抗体（2次抗体）を含む緩衝液である。蛍光標識液が流路41に注入されると、蛍光標識液が被検出物質に接触し、被検出物質が蛍光物質で標識される。この後、流路41内を緩衝液などで洗浄し、遊離の蛍光物質などを除去する。

[0065] 最後に、励起光 α を金属膜30（成膜面22）に照射して、検出対象領域31（標識物質）から放出され、導光ロッド141によって導かれた蛍光 γ （微弱光）の強度を光センサー145で測定する（工程S70）。具体的には、制御処理部163は、光源制御部161を制御して、光源ユニット121に励起光 α を出射させる。同時に、制御処理部163は、光センサー145が検出対象領域31から放出される蛍光 γ を検出するように、光センサー

制御部 162 を制御する。制御処理部 163 は、測定値から光学ブランク値を引き、被検出物質の量に相関する蛍光強度を算出する。蛍光強度は、必要に応じて、被検出物質の量や濃度などに換算される。

[0066] 以上のように、本実施の形態に係る SPFS 装置 100 では、導光ロッド 141 の入射面 142 の直径を D とし、円柱状の導光ロッド 141 の軸方向の長さを L とし、導光ロッド 141 の屈折率を n_2 とした場合、 $0.8n_2D < L < 1.2n_2D$ を満たす。よって、蛍光物質から放出された蛍光 γ の大部分は、導光ロッド 141 の入射面 142 から導光ロッド 141 の直径 D 離れた位置の近傍に集光され、光センサー 145 の受光面 146 に到達する。このとき、受光面 146 に到達する蛍光 γ は、 0° 以外の所定の角度（ピーク入射角）で最も光量が多くなる。したがって、波長分離フィルター 144 の波長分離特性をピーク入射角で受光面 146 に入射する光に対して最適化することにより、SPFS 装置 100 は、大型化することなく、効率よく、かつ高い SN 比で蛍光 γ を検出することができる。

[0067] なお、波長分離フィルター 144 は、導光ロッド 141 と一体化されていてもよい。たとえば、導光ロッド 141 の入射面 142 または出射面 143 に誘電体多層膜を形成することで、導光ロッド 141 および波長分離フィルター 144 を一体化してもよい。これにより、SPFS 装置 100 を小型化かつ簡素化することができる。

[0068] また、本実施の形態では、円柱状の導光ロッド 141 を有する SPFS 装置 100 について説明したが、導光ロッド 141 の形状は、円柱状に限定されない。図 8A、B は、本発明の一実施の形態の変形例に係る導光ロッド 141'、141'' の斜視図である。たとえば、導光ロッドは、図 8A に示されるように、入射面から出射面に向かってその断面積が連続的に小さくなるテーパ状の導光ロッド 141'、または入射面から出射面に向かってその断面積が連続的に大きくなるテーパ状の導光ロッド 141' であってもよい。

[0069] 入射面から出射面に向かってその断面積が連続的に小さくなるテーパ状

の導光ロッド141'では、広い入射面で多くの光を取り込み、取り込まれた光を狭い出射面で集光させつつ光センサー145に向けて出射することができる。この結果として、入射面から出射面に向かってその断面積が連続的に小さくなるテーパ状の導光ロッド141'を有するSPFS装置では、受光面146の面積が小さい光センサー145を使用することができる。検出装置の小型化および低コスト化の観点から、受光面146の面積が小さい光センサー145を使用できることは好ましい。また、一般的に、光センサー145の受光面の面積が大きいほど、ノイズが大きくなる。このため、微弱な光を検出する検出装置では、高いSN比で蛍光 γ の検出を行う観点からも、受光面146の面積が小さい光センサー145を使用できることは好ましい。

[0070] 一方、入射面から出射面に向かってその断面積が連続的に大きくなるテーパ状の導光ロッド141'では、入射面で入射した光が導光ロッド141'内のテーパ面で反射する。これにより、入射面で入射した光線の入射面に対する入射角と比較して、出射面で出射する光線の出射面に対する出射角を小さくすることができる。この結果として、円柱状の導光ロッド141を使用した場合と比較して、ピーク入射角を小さくすることができる。前述の実施の形態では、入射角がピーク入射角(35°)で入射する光線に対して最適化されている波長分離フィルター144を使用する場合について説明した。仮にピーク入射角が35°から30°に変化したとする。波長分離フィルター144に対する入射角が35°から0°に変化すると、カットオフ波長は640nmから680nmに変化する、すなわち長波長側に40nmシフトする(図5A、B参照)。これに対し、入射角がピーク入射角(30°)で入射する光線に対して最適化されている波長分離フィルターを使用すると、カットオフ波長は長波長側に30nm程度しかシフトしない。すなわち、図5A、Bが入射角30°で入射する光線に対して最適化されている波長分離フィルターの波長分離特性を示す図であるとする、図5Aにおける入射角30°で入射する光線に対する波長分離フィルターのカットオフ波長が

640 nm であるとき、図 5 B における入射角 0° で入射する光線に対する波長分離フィルターのカットオフ波長は 670 nm となる。この結果、入射面から出射面に向かってその断面積が連続的に大きくなるテーパ状の導光ロッド 141' を使用した場合、波長分離フィルター 144 は、励起光 α を確実に遮断することができる。これとともに、入射角 0° で入射するときのカットオフ波長が 670 nm となることで、蛍光 γ の一部を遮断することとなるが、カットオフ波長が 680 nm となる場合（ピーク入射角が 35° の場合）と比較して、遮断される蛍光 γ の光量を少なくすることができる。すなわち、SPFS 装置は、励起光 α を確実に遮断しつつ、より多くの蛍光 γ を検出することができ、SN 比をさらに向上させることができる。

[0071] また、図 8 B に示されるように、入射面もしくは出射面が凸レンズ状の導光ロッド 141" であってもよい。さらに、特に図示しないが、入射面および出射面が両方とも凸レンズ状の導光ロッドであってもよい。これにより、検出対象領域 31 から放出された蛍光 γ を効率よく光センサー 145 の受光面 146 に集光することができる。したがって、効率よく、かつ高い SN 比で蛍光 γ を検出することができる。

[0072] また、前述の実施の形態では、1 次反応（工程 S 20）の後に増強角の測定（工程 S 30）を行う場合について説明したが、本発明に係る検出装置では、各工程の順番はこれに限定されない。たとえば、1 次反応の前に増強角の測定を行ってもよい。これにより、1 次反応により検出チップの流路内に非特異的に吸着した物質の影響により、増強角が変化することを避けることができる。また、励起光 α の入射角があらかじめ決まっている場合には、増強角の測定を行わなくてもよい。

[0073] また、前述の実施の形態では、流路 41 を有する検出チップ 10 を例に挙げて説明したが、流路ではなくウェルを有する検出チップも使用できる。

[0074] 本出願は、2014 年 6 月 19 日出願の特願 2014-126282 に基づく優先権を主張する。当該出願明細書および図面に記載された内容は、すべて本願明細書に援用される。

産業上の利用可能性

[0075] 本発明に係る検出装置は、標識物質から放出される微弱な蛍光を効率よく、かつ高いSN比で検出することができるため、例えば臨床検査などに有用である。

符号の説明

- [0076]
- 10 検出チップ
 - 20 プリズム
 - 21 プリズムの入射面
 - 22 プリズムの成膜面
 - 23 プリズムの出射面
 - 30 金属膜
 - 31 検出対象領域
 - 40 流路蓋
 - 41 流路
 - 100 表面プラズモン共鳴蛍光分析装置（SPFS装置）
 - 110 チップホルダー
 - 120 励起光学系ユニット
 - 121 光源ユニット
 - 122 角度調整部
 - 140 受光光学系
 - 141、141'、141'' 導光ロッド
 - 142 導光ロッドの入射面
 - 143 導光ロッドの出射面
 - 144 波長分離フィルター
 - 145 光センサー
 - 146 受光面
 - 160 制御部
 - 161 光源制御部

- 162 光センサー制御部
- 163 制御処理部
- 164 フィルター制御部
- $\theta 1$ 導光ロッドに入射する光線の入射角
- $\theta 2$ 導光ロッドに入射した光線の屈折角
- $n 1$ 、 $n 2$ 屈折率
- D 導光ロッドの直径
- D' 検出対象領域の最大長さ
- D'' 光センサーの受光面の最大長さ
- L 導光ロッドの軸方向の長さ
- α 励起光
- β プラズモン散乱光
- γ 蛍光

請求の範囲

[請求項1]

被検出物質を標識した蛍光物質から放出される蛍光を検出することにより、前記被検出物質を検出する検出装置であって、

前記被検出物質を捕捉するための捕捉体が固定化された検出対象領域を含む検出チップを保持するチップホルダーと、

前記チップホルダーに保持された前記検出チップに励起光を照射するための光源と、

前記捕捉体に捕捉された前記被検出物質を標識した蛍光物質から放出される蛍光を、一端に位置する入射面で入射させ、他端に位置する出射面で出射させる導光ロッドと、

前記導光ロッドの軸方向に対して垂直な受光面を有し、前記蛍光を検出するための光センサーと、

前記検出チップおよび前記導光ロッドの間、または前記導光ロッドおよび前記光センサーの間に前記導光ロッドの軸方向に対して垂直に配置され、前記蛍光と前記蛍光以外の不要な光とを分離するための波長分離フィルターと、

を有し、

前記受光面における前記蛍光の入射角と光量との関係において、最も光量が多い入射角であるピーク入射角は 0° 以外であり、

前記ピーク入射角で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率は、前記ピーク入射角で前記受光面に入射する前記励起光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率よりも大きく、かつ入射角が 0° で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率より大きい、

検出装置。

[請求項2]

入射角が 0° で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率は、前記ピーク入射角

で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率の $1/5$ 以下である、請求項 1 に記載の検出装置。

[請求項3] 前記波長分離フィルターは、前記導光ロッドと一体化されている、請求項 1 または請求項 2 に記載の検出装置。

[請求項4] 前記導光ロッドは、前記入射面から前記出射面に向かってその断面積が一定である円柱状であり、

入射角が 35° で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率は、入射角が 35° で前記受光面に入射する前記励起光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率よりも大きく、かつ入射角が 0° で前記受光面に入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率より大きい、

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の検出装置。

[請求項5] 入射角が 35° で前記波長分離フィルターに入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率は、入射角が 35° で前記波長分離フィルターに入射する前記励起光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率よりも大きく、かつ入射角が 0° で前記波長分離フィルターに入射する前記蛍光の光線に対する主波長における前記波長分離フィルターの光透過率より大きい、請求項 4 に記載の検出装置。

[請求項6] 前記導光ロッドは、前記入射面から前記出射面に向かってその断面積が連続的に小さくなるテーパ状の導光ロッド、前記入射面から前記出射面に向かってその断面積が連続的に大きくなるテーパ状の導光ロッド、または前記入射面、前記出射面もしくはこれら両方が凸レンズ状の導光ロッドである、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の検出装置。

[請求項7] 前記検出チップは、プリズムと、前記プリズム上に配置された金属

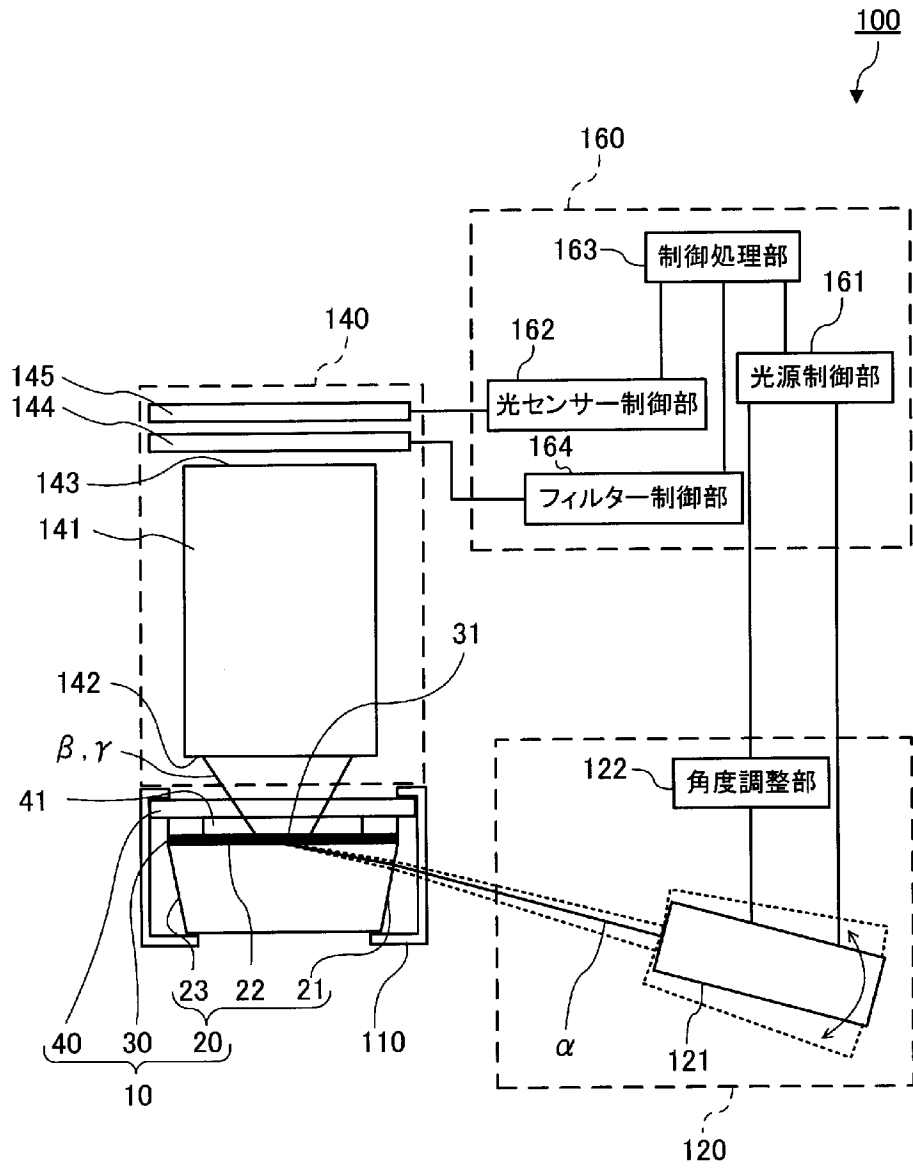
膜とを有し、

前記検出対象領域は、前記金属膜の表面の少なくとも一部であり、
前記光源は、前記プリズム側から前記捕捉体が固定されている領域
に対応した前記金属膜の裏面に励起光を照射し、

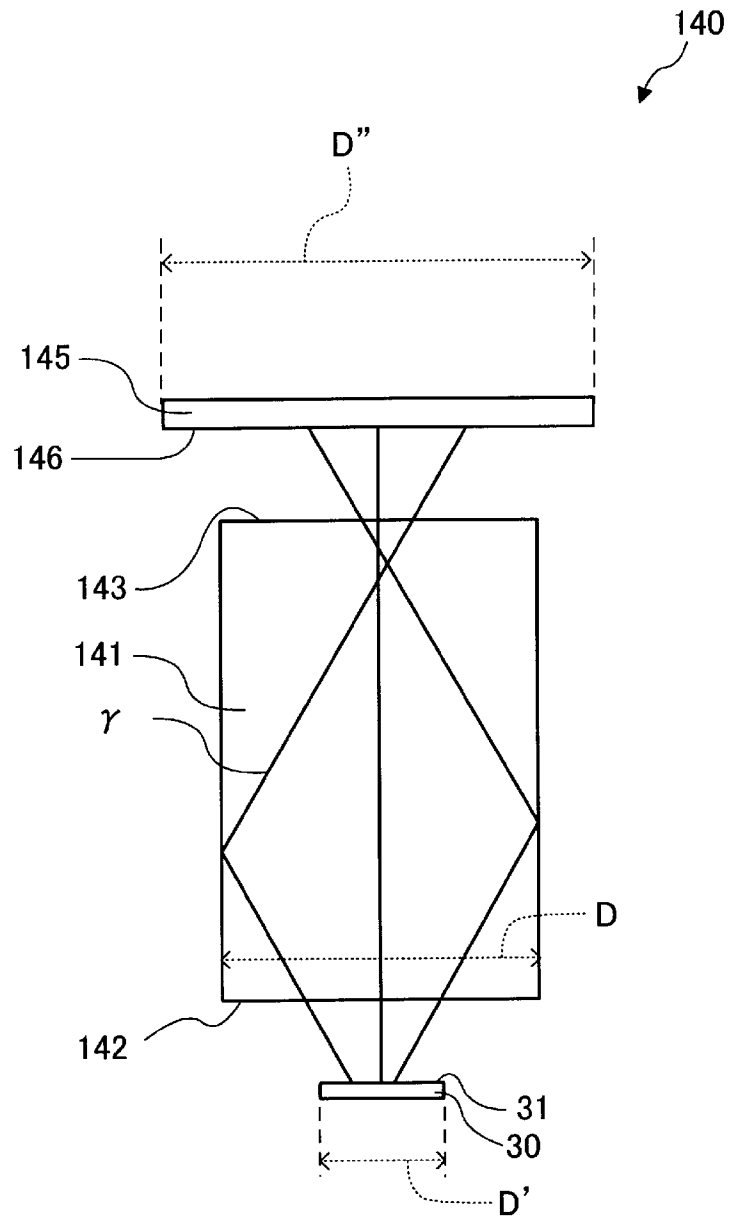
前記蛍光は、前記プリズムを介して前記金属膜の裏面に照射した励
起光により生じる局在場光により励起され、前記蛍光物質から放出さ
れる蛍光である、

請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の検出装置。

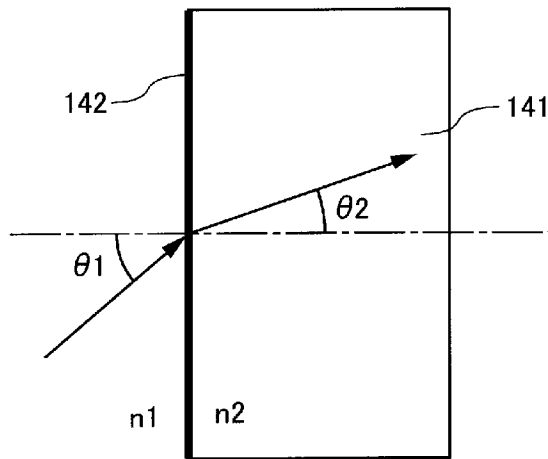
[図1]



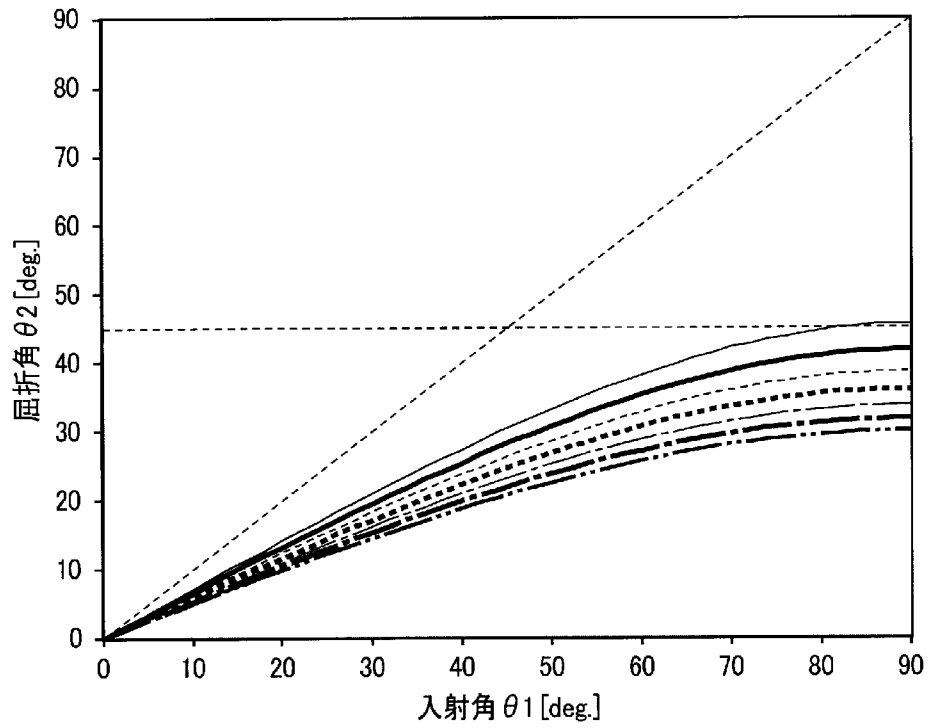
[図2]



[図3]



[図3A]



[図3B]

[図4]

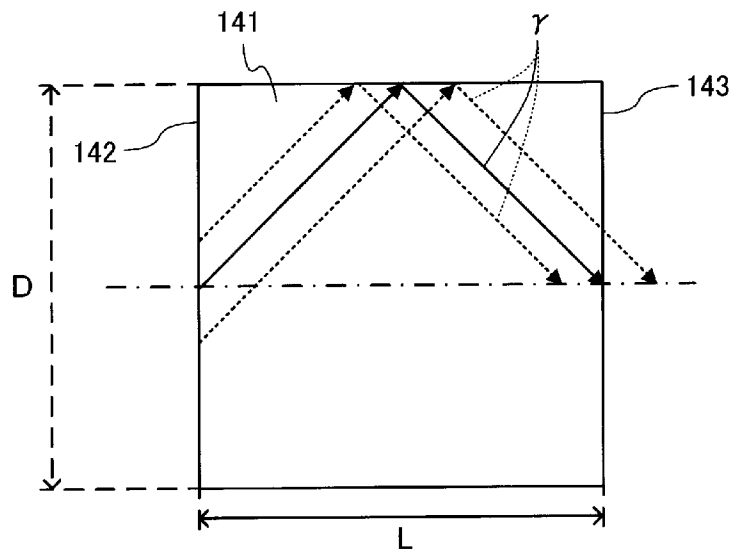


図4A

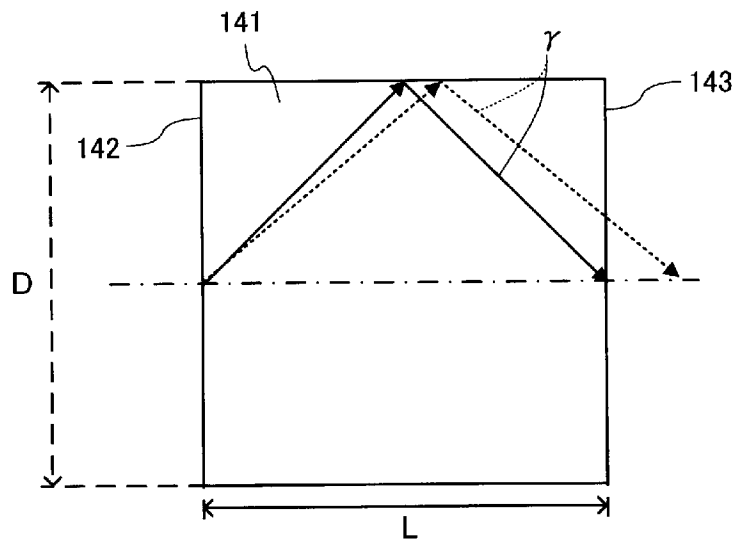


図4B

[図5]

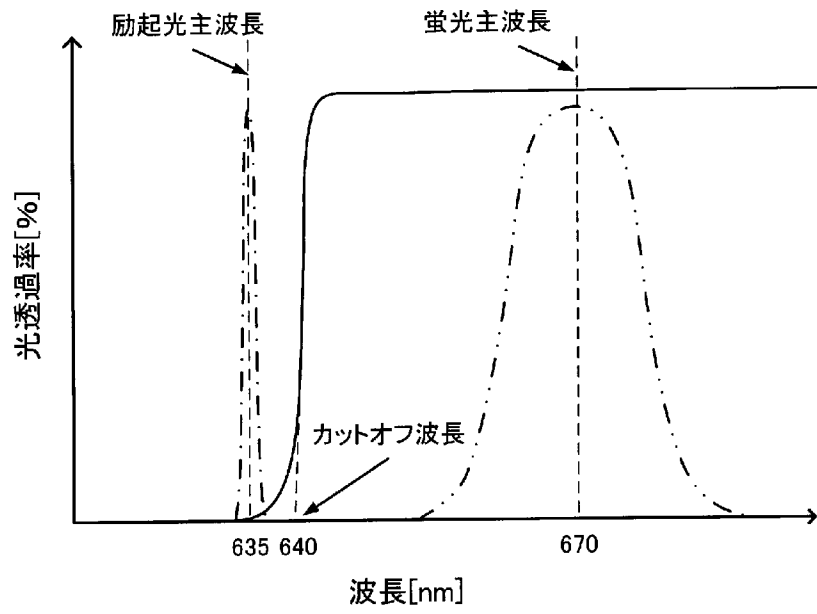


図5A

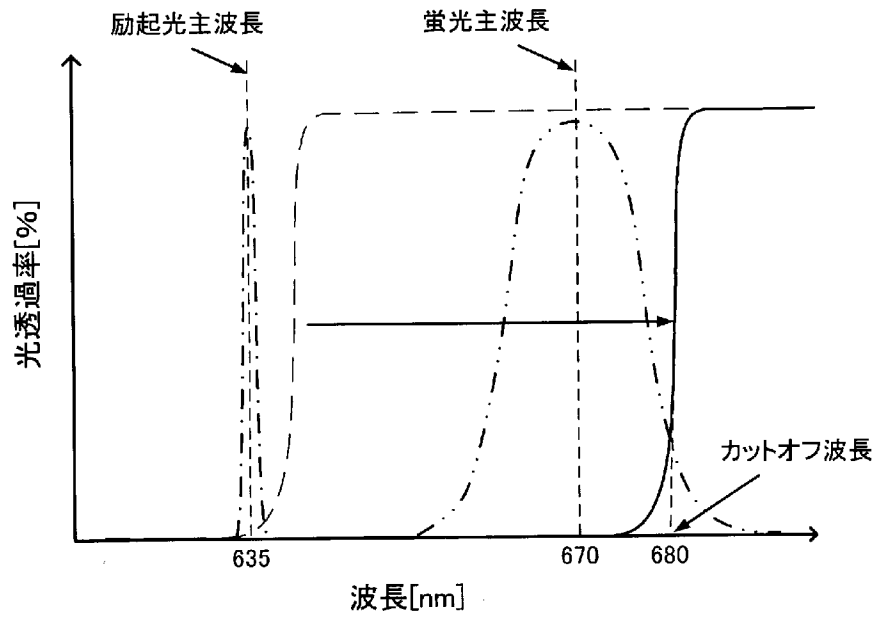
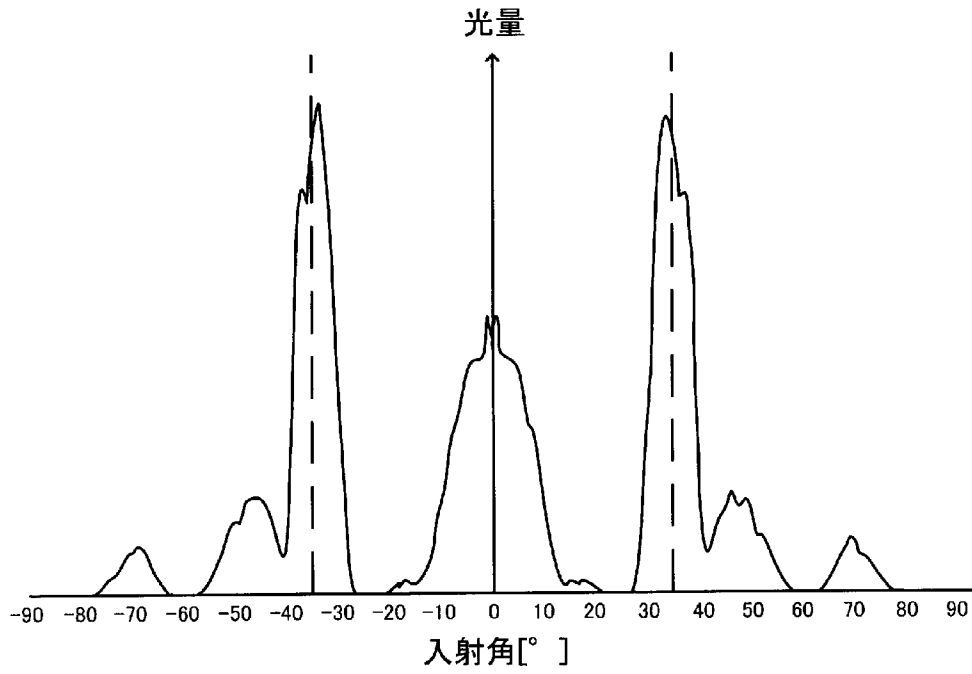
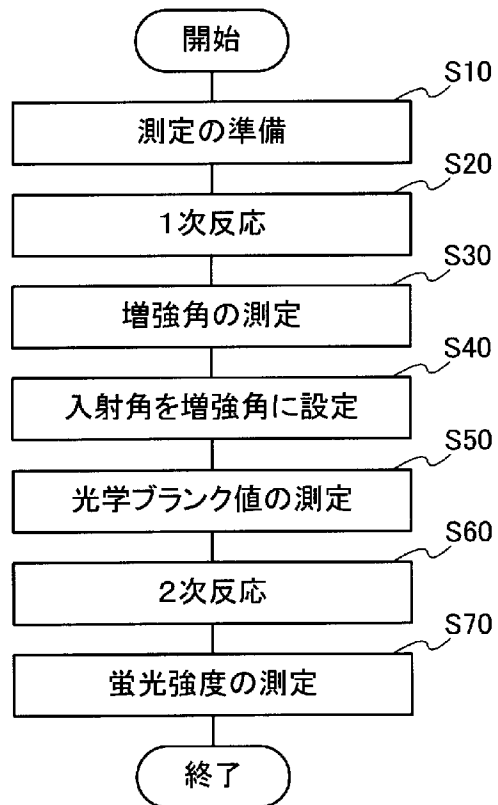


図5B

[図6]



[図7]



[図8]

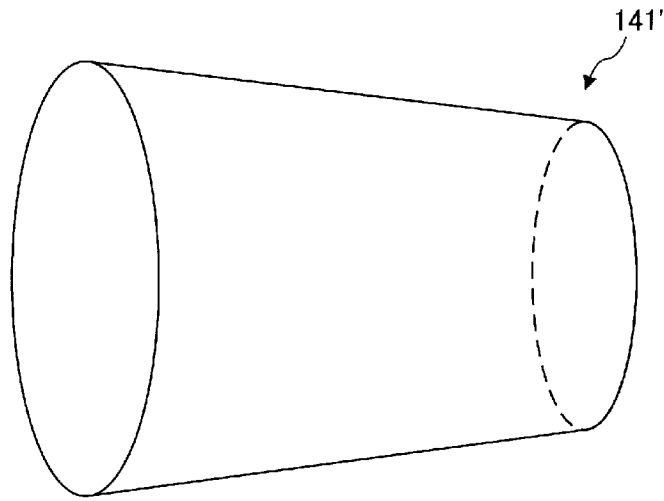


図8A

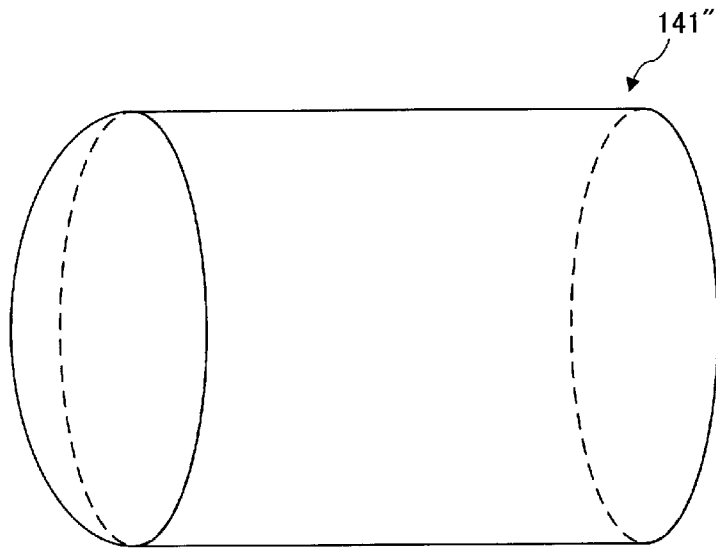


図8B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/067222

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N21/64(2006.01) i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N21/00, 21/01, 21/17-21/83, G02B21/00, 21/06-21/36

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2015	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2015

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2014-32148 A (Arkray, Inc.), 20 February 2014 (20.02.2014), claim 1; paragraphs [0041], [0042] (Family: none)	1-7
A	JP 2004-8412 A (Olympus Corp.), 15 January 2004 (15.01.2004), paragraphs [0061] to [0064] & US 2003/0229270 A1	1-7
A	JP 4-203952 A (Fuji Xerox Co., Ltd.), 24 July 1992 (24.07.1992), page 4, upper right column, lines 1 to 14 (Family: none)	1-7

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

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"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 application or patent 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 28 August 2015 (28.08.15)	Date of mailing of the international search report 08 September 2015 (08.09.15)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.
--	---

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N21/64(2006.01)i		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. G01N21/00, 21/01, 21/17-21/83, G02B21/00, 21/06-21/36		
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 1971-2015年 日本国実用新案登録公報 1996-2015年 日本国登録実用新案公報 1994-2015年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2014-32148 A (アークレイ株式会社) 2014. 02. 20 【請求項1】 , 【0041】 , 【0042】 (ファミリーなし)	1-7
A	JP 2004-8412 A (オリンパス株式会社) 2004. 01. 15 【0061】 - 【0064】 & US 2003/0229270 A1	1-7
A	JP 4-203952 A (富士ゼロックス株式会社) 1992. 07. 24 4 ページ右上欄 1-1 4 行 (ファミリーなし)	1-7
<input type="checkbox"/> C 欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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、一般的な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	28. 08. 2015	国際調査報告の発送日
		08. 09. 2015
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 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) 横井 亜矢子 電話番号 03-3581-1101 内線 3250	2W 9706