

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号
特許第6145096号
(P6145096)

(45) 発行日 平成29年6月7日(2017.6.7)

(24) 登録日 平成29年5月19日(2017.5.19)

(51) Int.Cl.
GO 1 N 21/41 (2006.01)

F I
GO 1 N 21/41 1 O 1

請求項の数 10 (全 15 頁)

| | | | |
|---------------|-------------------------------|-----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願2014-533242 (P2014-533242) | (73) 特許権者 | 597064713 |
| (86) (22) 出願日 | 平成24年9月27日 (2012. 9. 27) | | ジーイー・ヘルスケア・バイオサイエンス |
| (65) 公表番号 | 特表2014-528088 (P2014-528088A) | | ・アクチボラダ |
| (43) 公表日 | 平成26年10月23日 (2014. 10. 23) | | スウェーデン国エスエー 7 5 1 8 4 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/SE2012/051022 | | ウプサラ ビヨルクガタン 3 0 |
| (87) 国際公開番号 | W02013/048318 | (74) 代理人 | 100137545 |
| (87) 国際公開日 | 平成25年4月4日 (2013. 4. 4) | | 弁理士 荒川 聡志 |
| 審査請求日 | 平成27年9月18日 (2015. 9. 18) | (74) 代理人 | 100105588 |
| (31) 優先権主張番号 | 1150890-0 | | 弁理士 小倉 博 |
| (32) 優先日 | 平成23年9月28日 (2011. 9. 28) | (74) 代理人 | 100129779 |
| (33) 優先権主張国 | スウェーデン (SE) | | 弁理士 黒川 俊久 |
| | | (72) 発明者 | イヴァーソン, ベント |
| | | | スウェーデン、エス 7 5 1 8 4・ウプ サラ、ラブスガタン・2 3、ジーイー・ヘ ルスケア |
| | | | 最終頁に続く |

(54) 【発明の名称】 表面プラズモン共鳴バイオセンサシステム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

表面プラズモン共鳴 (S P R) バイオセンサシステムであって、当該 S P R バイオセンサシステムが、

S P R センサ表面 (1) と、

光の伝播方向と交差する S P R センサ表面 (1) 上の線形検出領域 (9) にくさび形光ビーム (6) を方向付けるように配置された照明ユニット (7) と、

反射角が列として定義される一方の次元に沿ってイメージングされ、検出領域 (9) の幅が行として定義される他方の次元に沿ってイメージングされるように、 S P R センサ表面 (1) から 2 次元光検出器ユニット (2 2) 上に反射光を方向付けるための検出光学系を備える検出ユニット (1 1) と

を備えており、前記照明ユニット (7) が、光の伝播方向と交差する S P R センサ表面 (1) 上の 2 以上の離隔した線形検出領域 (9 a , 9 b) にくさび形光ビーム (6) を選択的に方向付けるように配置されており、これらの検出領域 (9 a , 9 b) が複数の検出スポット (1 3) を含んでいて、 2 次元光検出器ユニット (2 2) が複数の列 (2 8) を含んでおり、各々の検出領域 (9 a , 9 b) の検出スポット (1 3) が 2 次元光検出ユニット (2 2) の同じ列にイメージングされる、表面プラズモン共鳴 (S P R) バイオセンサシステム。

【請求項 2】

前記照明ユニット (7) が、静的照明光学系と、伝播方向と交差する方向に離隔した 2

10

20

以上の光源とを備える、請求項 1 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 3】

前記光源が、各々のくさび形光ビーム (6) が S P R センサ表面 (1) 上の対応する線形検出領域 (9) に集束されるように、伝播方向に距離を隔てている、請求項 2 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 4】

前記 2 以上の光源が、2 以上の近接して取り付けられた L E D、E L E D、S L D 又はレーザダイオードで構成される、請求項 2 又は請求項 3 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 5】

前記 2 以上の光源が、2 以上の近接して取り付けられた光ファイバ、導波路、又は導波管で構成される、請求項 2 又は請求項 3 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 6】

2 以上の光源 (L E D、S L D、E L E D、レーザダイオード) が連続的に光を放射し、それらと光ファイバ、導波路又は導波管との光結合が、2 次元光検出器ユニット (2 2) からの読み出しと同期して適切な頻度で光の通過をオン及びオフに交互に切り替えるための手段を含む、請求項 5 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 7】

前記 2 以上の光源が、2 以上の L E D、E L E D、S L D 又はレーザダイオードで構成され、各光源から直接或いは各光源のビームコリメータ、ビームコレクタ又はビームコンデンサを介して入来するビームが、くさび形ビームを形成する静的照明光学系の前に光路に配置されたビーム結合装置の使用によって結合される、請求項 2 又は請求項 3 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 8】

前記照明ユニット (7) が、静的照明光学系と、光源と、伝播方向と交差する方向に光源からの光ビームを選択的に変換するための光ビーム変換ユニットとを備える、請求項 1 記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 9】

2 以上の離隔した線形検出領域 (9) から反射した光の S P R 曲線の結合された読取り値から相対的な S P R 角度シフト (複数次反射率の降下) を測定するように配置された S P R 評価ユニットを備える、請求項 1 乃至請求項 8 のいずれか 1 項記載の S P R バイオセンサシステム。

【請求項 10】

2 以上の離隔した線形検出領域 (9) の各々に沿って 2 以上の検出スポット (1 3) を備える、請求項 1 乃至請求項 9 のいずれか 1 項記載の S P R バイオセンサシステム。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、表面プラズモン共鳴 (S P R : S u r f a c e P l a s m o n R e s o n a n c e) バイオセンサシステムに関し、より詳細には、容量を増大した高感度の S P R バイオセンサシステムに関する。

【背景技術】

【0002】

生体分子など分子間の相互作用をリアルタイムで監視することができる表面プラズモン共鳴 (S P R) バイオセンサシステムには、ますます関心が高まっている。そのようなバイオセンサシステムの代表的なものは、G E H e a l t h c a r e により販売されている B I A C O R E (登録商標) であり、これはサンプル内の分子間の相互作用、及び検知表面上で固定化された分子構造を検出するために表面プラズモン共鳴 (S P R) を使用する。サンプルがセンサ表面を通過する際、結合の進行状況は、相互作用が発生する速度を

10

20

30

40

50

直接反映している。サンプル注入後、緩衝液流が続き、その間の検出器のレスポンスは、表面上の複合体の解離速度を反映している。B I A C O R E（登録商標）システムからの通常の出力は、時間経過に伴う分子間相互作用の進行を説明するグラフ又は曲線であり、結合位相部分及び解離位相部分を含む。この結合曲線は、通常はコンピュータ画面に表示され、「センサグラム」と呼ばれることが多い。

【0003】

K r e t s c h m a n n , E . , O p t i c s C o m m u n i c a t i o n s , 26, (1978) 41 - 44に記載されているように、反射率の変化に対して動作の速度が遅いこと、及び可動機構に基づきSPR手順に関して共鳴角を決定する際の精度が十分ではないという問題は、扇形ビーム（角度の範囲にわたりセンサ表面に同時に入射する複数のビームに相当する）、及び角度的に離隔された検出器のアレイによる（角度の範囲にわたる）反射ビームの集合を使用することによって解決される。

10

【0004】

さらに、欧州特許出願公開第0 3 0 5 1 0 9号に記述されている透過性ブロックは、くさび形ビームを作り出す半円柱の形態をとることができ、検知表面に小さな照光領域の列をもたらす。半円柱レンズには、単一のサンプルで同時に複数の検査を行なうために使用できるという利点がある。この目的のために、検知表面は、各々異なる抗体を備える一連の高感度領域（センサスポットの1Dアレイ）の形態をとり、各々別個の領域は検出器アレイ内の各自の検出器によって監視される。別個の表面領域のSPRの集束ラインに沿って光ビームの同一角度範囲をもたらすために使用される円筒形集束の原理は、B e n n e r , R . E . e t a l . O p t i c s C o m m u n i c a t i o n s 30 (1979) 145 - 149, and Swalen, J D et al. A m J . P h y s . 48 (1980) 669 - 672に記載されている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0005】

【特許文献1】米国特許第6738141号

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

30

本発明の目的は、新しいSPRバイオセンサシステムを提供することであり、そのSPRバイオセンサシステムは、従来技術の2DスポットアレイSPR検出の1以上の欠点を克服するものである。それは、独立クレームに定義されるように、SPRバイオセンサシステムによって達成される。

【0007】

本発明の方法による1つの利点は、堅固で、簡易な、低コストの効率的な方法で、相互作用研究のための検出器スポットの数を増やすことができることである。

【0008】

本発明のさらに深い理解、及び本発明のさらなる特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び図面を参照することにより得られるであろう。

40

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】SPRに基づくバイオセンサシステムを示す概略側面図である。

【図2】結合曲線が明らかな結合及び解離位相を呈する、代表的なセンサグラムを示す図である。

【図3a】従来技術のSPRバイオセンサシステムを示す概略図である。

【図3b】従来技術のSPRバイオセンサシステムを示す概略図である。

【図4a】本発明のSPRバイオセンサシステムの一実施形態を示す概略図である。

【図4b】本発明のSPRバイオセンサシステムの一実施形態を示す概略図である。

【図5a】図4a及び図4bのSPRバイオセンサシステムの動作原理を示す図である。

50

【図 5 b】図 4 a 及び図 4 b の S P R バイオセンサシステムの動作原理を示す図である。

【図 6】図 4 a 及び図 4 b の S P R バイオセンサシステムを示す拡大断面図である。

【図 7】図 4 a 及び図 4 b の S P R バイオセンサシステムを示す拡大断面図である。

【図 8】図 4 a 及び図 4 b の S P R バイオセンサシステムを示す拡大断面図である。

【図 9】本発明の代替の実施形態を示す図である。

【図 10】本発明の代替の実施形態を示す図である。

【図 11】本発明の代替の実施形態を示す図である。

【図 12】本発明の代替の実施形態を示す図である。

【図 13】本発明の代替の実施形態を示す図である。

【図 14】本発明の代替の実施形態を示す図である。

10

【発明を実施するための形態】

【0010】

前述のように、本発明は、

S P R センサ表面と、

光の伝播方向と交差する S P R センサ表面上の線形の検出領域において光のくさび形ビームを方向付けるように配置された照明ユニットと、

反射角が一方の次元に沿ってイメージングされ、検出領域の幅が他方の次元に沿ってイメージングされるように、S P R センサ表面から 2 次元光検出器ユニット上に反射された光を方向付けるための検出光学系を備える検出ユニットとを備え、

照明ユニットは、S P R センサ表面上の 2 以上の離隔された線形の検出領域において光のくさび形ビームを選択的に方向付けるように配置される、表面プラズモン共鳴 (S P R) バイオセンサシステムに関する。

20

【0011】

しかし、本発明をさらに詳細に説明する前に、本発明を使用することが企図される一般的なコンテキストについて説明する。

【0012】

他に特に定義のない限り、本明細書において使用されるすべての技術及び科学用語は、本発明に関連する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と同様の意味を有する。また、単数形の「a」、「an」、及び「the」は、特に指示のない限り、複数の参照を含むことが意図される。

30

【0013】

本明細書において言及されるすべての出版物、特許出願、特許、及びその他の参考文献は、参照によりそれらの全体を本明細書に援用する。

【0014】

市販されているバイオセンサは、G E H e a l t h c a r e によって製造され販売されている前述の B I A C O R E (登録商標) システム機器であり、これは表面プラズモン共鳴 (S P R) に基づいて、結合リガンドと関心対象のアナライトとの間の表面結合相互作用をリアルタイムで監視できるようにする。このコンテキストにおいて、「リガンド」は、所与のアナライトに既知又は未知のアフィニティを有する分子であり、表面の検知量 (検出量) 内の固定化されたキャプチャ又は捕捉剤を含むが、一方「アナライト」は、任意の固有の結合パートナーを含む。

40

【0015】

S P R の現象はよく知られているので、S P R とは、光が屈折率の異なる 2 つの媒質間の境界面において特定の条件下で反射される場合に生じるものであること、及びその境界面は通常銀又は金の金属フィルムで被覆されていることを説明するにとどめておく。B I A C O R E (登録商標) 機器において、媒質は、サンプル、及び微小流体フローシステムによりサンプルと接触させるセンサチップのガラスである。金属フィルムは、チップ表面上の金の薄層である。S P R は、反射の固有の角度範囲において反射光の強度を低減させる。最小反射光強度の角度、いわゆる S P R 角度は、B I A C O R E (登録商標) システムのサンプル側の、反射光と対向する側の金属表面に近接する屈折率に応じて異なる。

50

【0016】

B I A C O R E (登録商標) システムの概略図を図 1 に示す。センサチップ 1 は、フローチャンネル 5 を通じて、例えば抗原などアナライト 4 のサンプル流にさらされた、例えば抗体などキャプチャ分子 (リガンド) 3 を支持する金フィルム 2 を有する。照明ユニット 7 (例えば、LED) からの主として単色の p 偏光 6 は、プリズム 8 によってガラス / 金属境界面 9 に結合され、ここで光は、SPR により全反射を減衰させて、SPR 曲線を形成する。反射光ビーム 10 の強度は、光検出ユニット 11 (例えば、光検出器アレイ) によって検出される。

【0017】

サンプル内の分子がセンサチップ表面上のキャプチャ分子に結合する場合、濃度、ひいては表面の屈折率が変化し、SPR 曲線角度位置のシフトに起因する、SPR 反応、SPR 角度、強度、又は SPR 曲線状パラメータの変化が検出される。相互作用の経過中の時間に対するレスポンスをプロットすることで、相互作用の進行を定量的に測定することができる。そのようなプロット、又はカイネティクス若しくは結合曲線 (結合等温線) は通常、センサグラムと呼ばれるが、場合によっては、当技術分野において「アフィニティレース」又は「アフィノグラム」と称されることもある。B I A C O R E (登録商標) システムにおいて、SPR レスポンス値は、共鳴単位 (RU) で表される。1 つの RU は、最小反射光強度の角度、又は SPR 曲線重心角度における 0.0001° の変化を表すが、これはほとんどのタンパク質及びその他の生体分子の場合、センサ表面における約 1 pg/mm^2 の濃度の変化に相当する。アナライトを含むサンプルがセンサ表面と接触すると、センサ表面に結合されたキャプチャ分子 (リガンド) は、「結合 (association)」と称される段階においてアナライトと相互作用する。この段階は、サンプルを最初にセンサ表面と接触させた際の RU の増加によりセンサグラムで指示される。逆に、「解離 (dissociation)」は通常、サンプルの流れが、例えば緩衝液流に置き換えられる場合に生じる。この段階は、アナライトが表面結合リガンドから解離する際の経時的な RU の降下によりセンサグラムで指示される。

【0018】

図 2 に、センサチップ表面における可逆相互作用の代表的なセンサグラム (結合曲線) を示すが、検知表面は、例えば、サンプル内の結合対象、すなわちアナライトと相互作用する抗体など、固定化されたキャプチャ分子、すなわちリガンドを有する。縦軸 (y 軸) は、レスポンス (共鳴単位、RU で表示) を示し、横軸 (x 軸) は、時間 (秒単位で表示) を示す。最初、緩衝液は、検知表面を通過し、センサグラムにベースラインレスポンス A をもたらす。サンプル注入中、アナライトの結合に起因する信号の増大が観察される。結合曲線のこの部分 B は、通常、「結合位相 (association phase)」と称される。最終的に結合位相の最後又は最後付近において定常状態条件に到達し、共鳴信号は C において安定状態になる (しかし、常にこの状態に到達するとは限らない)。本明細書において、「定常状態 (steady state)」という用語は、「平衡 (equilibrium)」という用語の同義語として使用されることに留意されたい (他のコンテキストにおいて、たとえシステムが平衡状態ではない場合でも実際に結合が経時的に一定となりうるので、「平衡」という用語は、理想相互作用モデルを説明する場合に備えて使用を控える場合もある)。サンプルの注入の終わると、サンプルは、緩衝液の連続流に置き換えられ、信号の減少は、表面からアナライトが解離したことを反映する。結合曲線のこの部分 D は、通常、「解離位相 (dissociation phase)」と称される。解析は、再生成段階により終了し、ここで表面から結合アナライトを除去することができ、しかも (理想的に) リガンドの作用を保持することができる溶液が、センサ表面に注入される。これは、センサグラムの部分 E に示される。緩衝液の注入により、ベースライン A が回復し、表面は新たな解析を行なう準備が整っている。

【0019】

結合位相 B 及び解離位相 D のそれぞれのプロファイルから、結合及び解離のカイネティ

10

20

30

40

50

クスに関する情報が得られ、Cにおける共鳴信号の高さはアフィニティを表す（相互作用から生じたレスポンスが、表面上の質量濃度の変化に関連する）。このことについては、後段でさらに詳細に説明する。

【0020】

B I A C O R E（登録商標）機器の技術的側面及び基本光学原理、並びにS P Rの現象についての詳細な説明は、米国特許第5,313,264号に記述されている。

【0021】

図3a及び図3bは、そのような従来技術のB I A C O R E（登録商標）システムにおける光学システムを概略的に示し、図3bは上面図であり、図3aは図3bの平面Pの断側面図である。そのようなシステムは、光の伝播方向と交差するS P Rセンサ表面2上の線形の検出領域9において光のくさび形ビーム6を方向付けるように配置された、光源24及びくさび形成光学系26とを備える照明ユニット7を備える。説明のため、光路内のすべての屈折性の要素は省略されている（例えば、図1に示されるプリズムのような、ビームをセンサ表面に結合する光学系）か、又は一般的な「光学系」ユニット（例えば、20及び26）で置き換えられている。光のくさび形ビーム6は、図3bに示されるように交差方向に基本的に均一であり、62から78度など、S P R検出に関連する入射角において示される線形の検出領域9を照らす。中間（例えば、62°と78°の間）入射角すべてを有する光線が、このビーム内にある。システムは、反射の角度が一方の次元（列）に沿ってイメージングされ、検出領域の幅が他方の次元（行）に沿ってイメージングされるように、S P Rセンサ表面1から2次元光検出器ユニット22に反射された光を方向付けるための特殊なアナモルフィック検出光学系20を持つ検出ユニット11をさらに備える。説明のため、1つの入射平面のみを検討することとし、例えば62°の光入射は、感光性表面9上に反射され、2次元光検出器ユニット22の単一の検出要素28Aでのみ検出光学系20によってイメージングされる。同様に、角度78°の光入射は、1つの単一検出要素28Hでイメージングされる。62度から78度の入射角値を有する光は、同様に、同じ検出器列で要素28Aと28Hの間にある単一の検出要素を照らし、これは図3a及び図3bにおいて、垂直の列として示される。

【0022】

例えば発光ダイオードなど光源24は、概ね単色の特性を備え（帯域幅～50nm）、さらにインコヒーレントで、ほぼ約650から約850nm程度の中心波長を持つ光の種類を放射する。或いは、光源24は、例えば半導体レーザ、色素レーザ、又はガスレーザなどレーザであり、概ね単色でコヒーレントな光を放射する。或いは、光源24はまた、超発光又は超放射ダイオード（SLD）、又はELEDのいずれかのような、低コヒーレントエッジ発光ダイオードの形態をとることもある。

【0023】

入射面Pに平行な異なる入射面を持つ光線は、2次元光検出器ユニット22の他方の列に属する個々の検出要素上に同様にイメージングされる。したがって、行のすべての検出要素は、1つの固有の入射角に対応する。したがって、導管部分の交差方向に見られるように、検知表面のそれぞれの部分が、2次元光検出器ユニット22の各列に対応する。サンプルのフローチャネルの幅、検出光学系の倍率、個々の検出要素の表面積、それらの検出要素の間隔に応じて、当該のフローチャネル部分の合計幅をイメージングするために特定数の検出要素の列が必要であってもよい。

【0024】

図3a及び図3bの実施形態では、同時に最大9つの独立した相互作用を登録できるようにする、相互作用解析用の9つの検出スポット13a～13iが示される。当技術分野において定着しているように、リガンドは各検出スポットで固定化され（1以上のスポットは、S P Rレスポンスへの非特定の寄与を軽減するための基準チャネルとして機能を果たすため、意図的にリガンドなしの状態であってもよい）、同一又は異なるアナライトをセンサスポットに接触させる。一実施形態では、米国特許第5313264号に示されるように、各検出スポット13は、アナライトがスポットを通過するためのフローチャネル

に関連付けられるが、代替として2以上の検出スポット13は、例えば(米国特許第7811515号に開示されるように)個々の検出スポット13を流体力学的にアドレスすることができる、1つの単一フローセルで配置されてもよい。

【0025】

図3a及び図3bに示されるタイプの従来技術のシステムにおいて、検出スポットの理論的最大数は、2次元光検出器ユニット22のピクセル行の数によって制限されるが、実際の数は、検出スポット13及び関連する流体システムのサイズによって異なる。

【0026】

図4a及び図4bは、本発明の一実施形態に係る表面プラズモン共鳴(SPR)バイオセンサシステムの概略的な実施形態を示すが、検出スポット13の数は、システムの光学系を大幅に再設計する必要なく2倍になる。平面Pで適切な距離だけ第1の光源24aと離隔された第2の光源24bを設置し、光源からの光の放射を適切に制御することにより、照明ユニットは、光の伝播方向と交差するSPRセンサ表面1上で、それぞれ2つの離隔された線形の検出領域9a及び9bにおいて光のくさび形ビーム6を選択的に方向付けるように配置される。概して、図3a及び図3bの従来技術のSPRシステムのすべての要素に変更を加えることはないが、最適化が行なわれてもよいことが当業者には理解されよう。第2の光源24b及び関連するビーム経路の変位は、例示するために誇張されており、実用的な光設計における実際の変位は、センサ表面上の検出領域9a及び9bの間に適切な距離をあけるためにごくわずかなものであってもよい。実際の変位はさらに、経路に沿ったすべての他の光コンポーネントの光学的特性(例えば、口径/イメージング領域)によって制限されてもよい。

【0027】

約0.3mm離れた2つの光源24a及び24bを含む一実施形態では、2つの光ビームは、同時に生成されて、センサ表面1で約1mm離れた2つの検出領域9a及び9bをもたらす。

【0028】

各検出スポット13ペア(平面Pと平行な同一平面内に配置されたスポット)の2つの検出領域9a及び9bは、2次元光検出器ユニット22の同じピクセル列にイメージングされるので、その時点において1つのSPR曲線(反射率曲線の1つの降下)として測定される2つの相互作用レスポンスは、完全に同時には記録されない可能性がある。したがって、2つの検出領域9a及び9bに沿って検出スポット13から独立して相互作用データを記録するために、2次元光検出器ユニット22からの読み出しと同期して、2つの光源24a及び24bのオンとオフを適切な頻度で交互に切り替える。このようにすることで、2つの検出スポット行の各々について1つずつ、2つのほぼ同時のセンサグラムのセットを生成することができる。2つの光源24a及び24bをオン及びオフに交互に切り替える動作は、図5a及び図5bに示される。

【0029】

用途によっては、各検出スポット13ペア(平面Pと平行な同一平面内に配置されたスポット)の2つの検出領域9a及び9bは、2次元光検出器ユニット22の同じピクセル列に同時にイメージングされるので、2以上の反射率最小値を含む重ね合わせSPR曲線を形成する。これにより、前記反射率最小値間のシフトとして測定される、前記検出領域間の相対的な相互作用レスポンスを完全に同時に監視することができる。そのような実施形態では、SPR評価ユニットは、2以上の離隔された線形の検出領域から反射した光のSPR曲線の結合された読取り値から相対的なSPR角度シフト(複数次反射率の降下)を測定するように配置される。

【0030】

図4aから5bにおいて認められるように、光源の平面Pの垂直変位により、入射角の範囲は、2つのくさび形ビームでわずかに異なっている。約0.3mm離して移動した光源を使用する上記の実施形態では、入射角の範囲はほぼ0.2°程度異なるので、検出領域9bについては62.0°から78.0°であるが、検出領域9aについては61.8

10

20

30

40

50

から 77.8° である。したがって、ピクセル列に交互にイメージングされる角度範囲の間に小さなオフセットがある。角度範囲の前記オフセットは、図 6 の 2 次元光検出器ユニット 22 の拡大図にさらに明瞭に示されており、くさび形ビームの中心光線 6 のイメージの角度範囲のオフセットは d で表され、これは上記の実施形態では、例えば 0.2° ほどの大きさである。しかし、(米国特許第 5313264 号に詳細に開示されているように) 平面 P におけるアナモルフィック検出光学系の角度 - ポイント「イメージング」により、前記焦線に沿ったスポットで同一の屈折率をエンコードする SPR 曲線のピクセル列位置の間にはオフセットがなくなる。さらに、2 つの平行する検出領域 9a 及び 9b の交差方向に見られるように、検知表面のそれぞれの部分に対応するピクセル列位置の間にオフセットがなくなる。一実施形態では、2 以上のくさび形ビームは、ほぼ等しい絶対入射角範囲をもたらず光線を含む (例えば、くさび形ビーム番号 1: $65^\circ \sim 75^\circ$ 、くさび形ビーム番号 2: $65^\circ \sim 75^\circ$)。別の実施形態では、2 以上のくさび形ビームは、複数の絶対入射角範囲のくさび形ビームをもたらず光線を含む (例えば、くさび形ビーム番号 1: $65^\circ \sim 75^\circ$ 、くさび形ビーム番号 2: $62^\circ \sim 78^\circ$ 、それにより 2 つのビームでは角度ダイナミックレンジが異なる)。さらに、別の実施形態では、2 以上のくさび形ビームは、複数の非重なり絶対入射角範囲のくさび形ビームをもたらず光線を含む (例えば、くさび形ビーム番号 1: $60^\circ \sim 70^\circ$ 、くさび形ビーム番号 2: $70^\circ \sim 80^\circ$ 、それにより 2 つのビームでは絶対角度範囲が異なる)。さまざまな角度間隔は、光源 24a 及び 24b のさまざまな位置決め、及びくさび形成光学系 26 の設計によって達成することができる。

【0031】

図 7a 及び図 7b は、図 4a 及び図 4b の 2 つのビームを配置した SPR センサ表面 1 の拡大図を示し、図 8 は、2 つの光源 24a 及び 24b の構成の拡大図を示す。2 つの光源 24a 及び 24b の相対位置は、くさび形光学系 26 の光学的特性に大きく依存する。可能な最善の感度及びパフォーマンスを達成するため、光源 24a 及び 24b の各々に関連付けられているくさび形ビーム 6 は、センサ表面 1 を照らして同じ幅の検出領域 9a 及び 9b を形成する必要がある、幅の狭さは適切でなければならない。一実施形態では、光源 24a 又は 24b に関連付けられている各くさび形ビーム 6 は、センサ表面を原則的にその「焦点」において照らす必要がある。図 8 において D で示される、第 2 の光源 24b の垂直変位は、関連するビーム 6b がセンサ表面 1 (例えば、検出領域 9b) を照らす位置の (光の伝播の一般的方向に沿った) 水平変位を結果としてもたらずことを考慮すると、くさび形成光学系 26 と検出領域 9b との間の距離は増大する。したがって、関連するビーム 6b の焦点は、図 8 において s で示されるように、光源 24b の側方変位によって相応して変位することが好ましい。

【0032】

光源 24a 及び 24b は、例えば、望ましい効果を達成するために十分に近接して取り付けることができる小さい光源で構成されてもよい。一実施形態では、光源 24a 及び 24b は、LED チップ、又はエッジ発光の超発光ダイオード (SLD) 光源である。別の実施形態では、2 以上の光源は、図 9 において概略的に開示されるように、それらの出射表面が近接して取り付けられ、各々外部光源に接続されている 2 以上の光導波路又は光導波管で構成することができ、2 以上の光導波路は、フェルルール 34 に近接して取り付けられ、外部光源 30a 及び 30b に接続された 2 つの光ファイバ 32a 及び 32b で構成される。そのような実施形態では、2 以上の光源 (LED、SLD、ELED、レーザダイオード) は、上記に従って順次オン及びオフに切り替えることができるか、又は連続的に光を放射することができ、光源の光ファイバ、導波路、又は導波管への光結合は、2 次元光検出器ユニットからの読み出しと同期して適切な頻度で光の通過をオン及びオフに交互に切り替えるための手段を含む。

【0033】

一実施形態では、光の通過をオン及びオフに交互に切り替えるための手段は、レンズ、及び各光源とそれぞれの光ファイバ、導波路、又は導波管の受信端との間に位置する光ビ

10

20

30

40

50

ームシャッタとを備え、光源とレンズの間又はレンズと前記受信端との間の光の通過はビームシャッタによって選択的に遮断されるようになっている。ビームシャッタ（複数可）は、電気機械式又は電気光学式のシャッタであってもよい。別の実施形態では、光の通過をオン及びオフに交互に切り替えるための手段は、各光源と光ファイバ／導波路／導波管の受信端との間に位置する可動ミラーを備えることができ、光源と前記受信端との間の光の通過は電気機械式ミラーによって交互に開放／遮断されるようになっている。

【0034】

一実施形態では、2以上の光源は、2以上のLED、ELED、SLD、又はレーザダイオードで構成され、各光源から直接入来するか、又は各光源のビームコリメータ、ビームコレクタ、若しくはビームコンデンサを介して入来するビームは、くさび形ビームを形成する静的照明光学系の前に光路に配置されたビーム結合装置を使用することによって結合される。図11に概略的に開示される一実施形態では、ビーム結合装置は、静的照明光学系26の2つの光源24a及び24bからのビームを結合するように配置された半透明ミラー50を備えることができる。半透明ミラーは、例えば、表面が半透明／反射金属フィルムでコーティングされている透明基質スライド、又はリバースにした光ビームスプリッタデバイス（例えば、プリズム、プレート、又は薄膜）をで構成することができる。前記ミラーは、1つの光源の光ビーム強度の一部を静的照明光学系の方向に透過するが、第2の光源のビーム強度の一部を静的照明光学系の方向に反射する。

【0035】

図12に概略的に開示される一実施形態では、ビーム結合装置は、1つの透過部分54及び1つの反射部分56に分割される光学本体52を備えることができ、光学本体は、1つの光源24aの光ビームを静的照明光学系の方向に透過するが、第2の光源24bの光ビームを静的照明光学系26の方向に反射する。或いは、光学本体は、反射部分56に限定されてもよいので、第1の光源24aからの光ビームは光学本体を通過する必要はなくなるが、それ以外は同様である。2つの平行する別個の焦線においてセンサ表面に入射する2つのくさび形ビームの各々に適切な動作入射角範囲をもたらすために、ビーム平行（又は広がり）の度合い、並びに前記ビームコンパイナへの球状に集束されたビームの相対位置に加えて、光軸の長さ及び角度が選択される。

【0036】

図13に概略的に開示される一実施形態では、ビーム結合装置は、それぞれ異なる反射部分60及び62に分割され、各々が静的照明光学系26の方向に1つの光源24a又は24bの光ビームを反射するように配置された光学本体58を備えることができる。

【0037】

別の実施形態では、2つの光源は、光源、及び伝播方向と交差する方向の単一の光源40からの光ビームを2以上の位置に選択的に変換するための可動ミラー装置42など光ビーム変換ユニットに置き換えられる。

【0038】

前述のように、本発明の設計は、2つの検出領域9a及び9bに限定される必要はなく、図14a及び図14bは、5つの平行の検出領域9aから9eを備え、検出スポット13が45箇所になる実施形態を開示する。

【0039】

一実施形態では、照明ユニットは、第1の線形の検出領域9aにおいて第1の波長の第1のくさび形ビーム、及び第2の線形の検出領域9bにおいて第2の波長の第2のくさび形ビームをもたらすため、相互に関して異なる波長の1以上の光源24a及び24bを備えることができる。そのような装置により、異なる波長は相互作用の異なる情報を返すので、調査された相互作用のさまざまな特性を、同じフローチャネルでオンラインで研究することができる。例えば、

- ・ ~ 630 nmの短波長は、より高い表面感度（プラズモン電界のより短い透過深度、より小さい検出容量）をもたらす。

- ・ ~ 760 - 820 nmの、近赤外（NIR）範囲のより長い波長は、プラズモン電界の

10

20

30

40

50

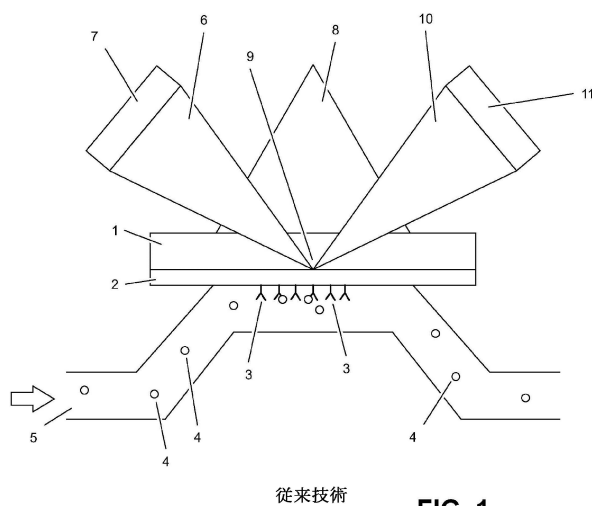
より深い透過深度、より大きい検出容量にわたり平均化された感度をもたらす。

・ ~ 1 . 3 μm の I R 範囲の波長はさらに、細胞膜及び類似する生物学的構造の検出に適した範囲まで、前記の浸透深度を増大させる。

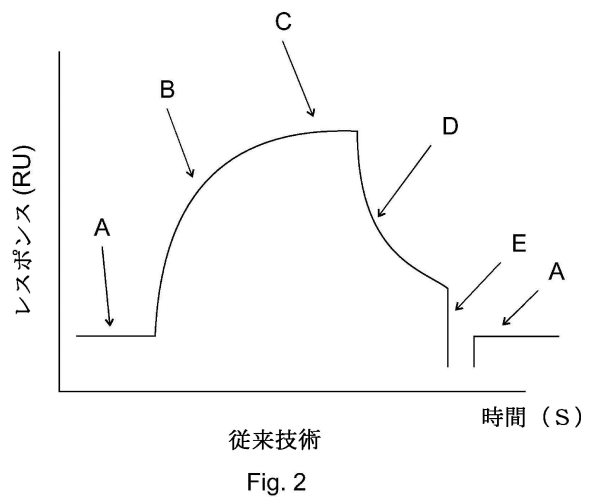
【 0 0 4 0 】

或いは、前記光源 2 4 a 及び 2 4 b の 1 以上は、2 以上の波長において光を選択的に供給することができる。これは、例えば水平面に相互に近接して配置された異なる波長の 2 以上の光源により達成することができる。

【 図 1 】



【 図 2 】



【図 3 a】

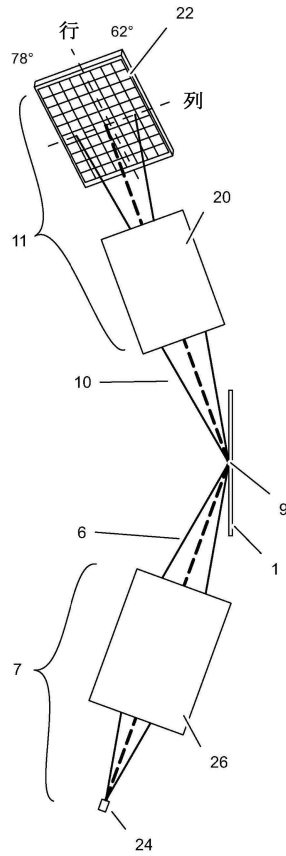


Fig. 3a

【図 3 b】

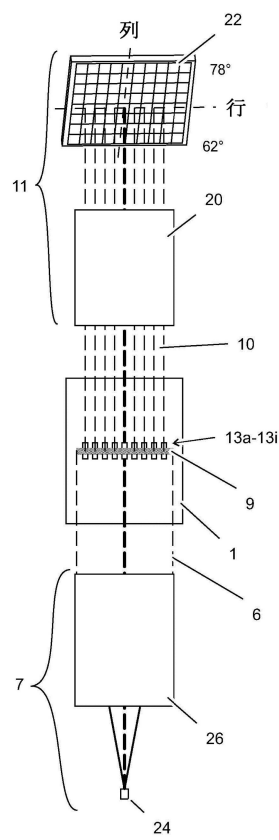


Fig. 3b

【図 4 a】

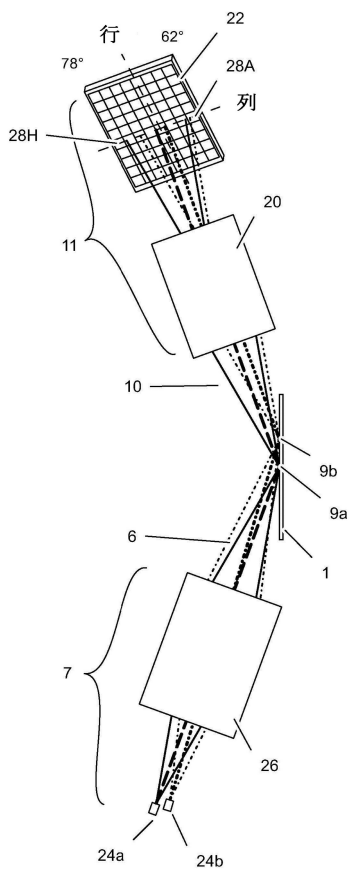


Fig. 4a

【図 4 b】

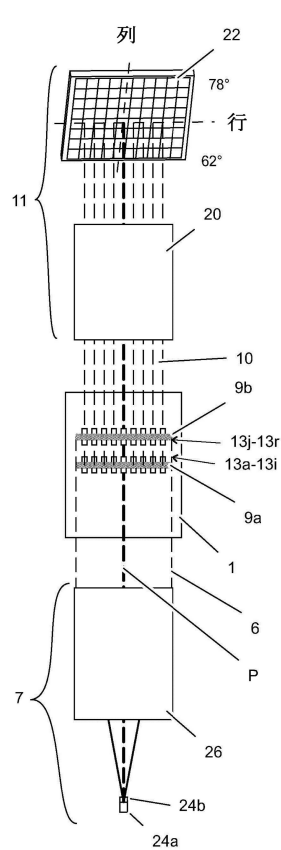


Fig. 4b

【図 5 a】

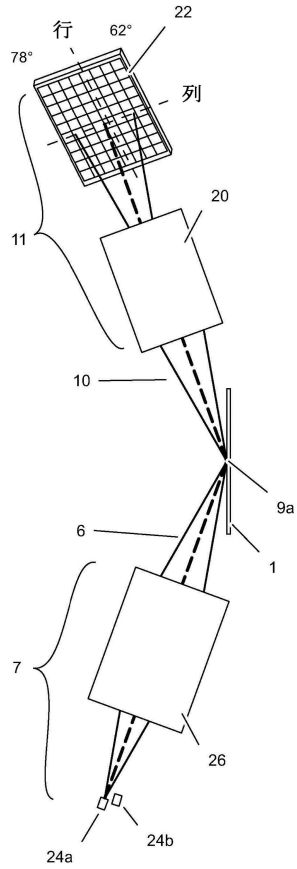


Fig. 5a

【図 5 b】

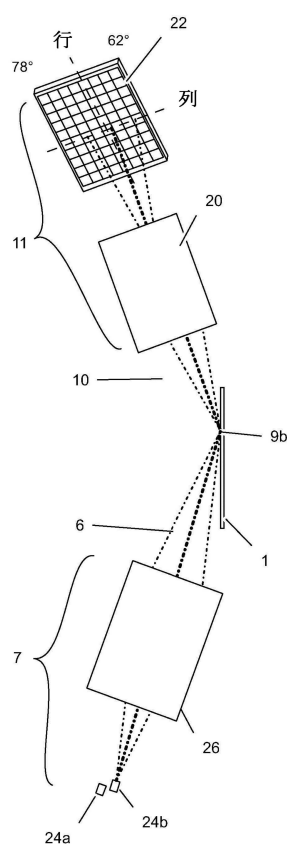


Fig. 5b

【図 6】

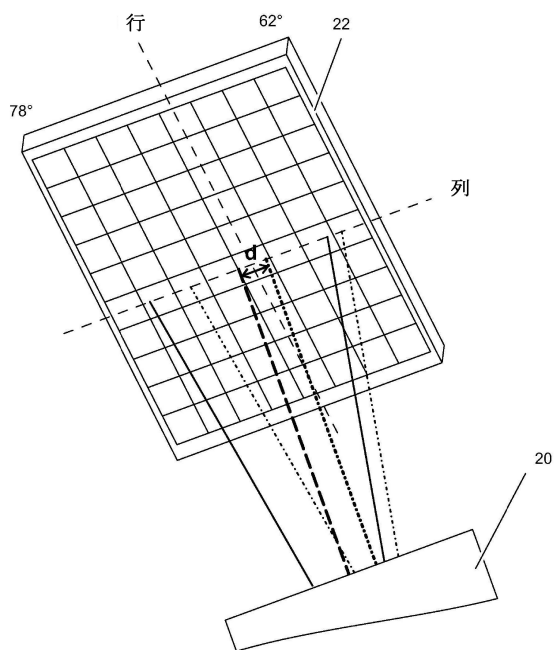


Fig. 6

【図 7】

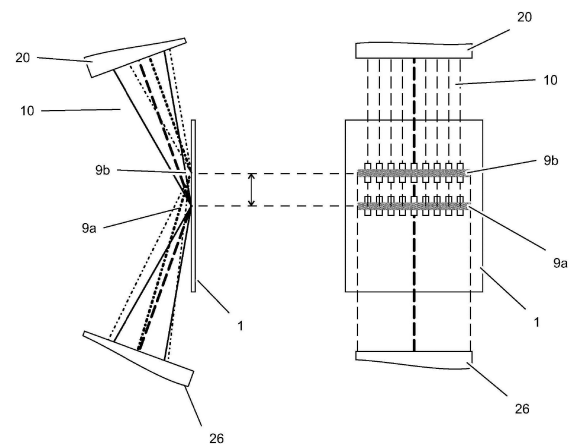


Fig. 7a

Fig. 7b

【図 8】

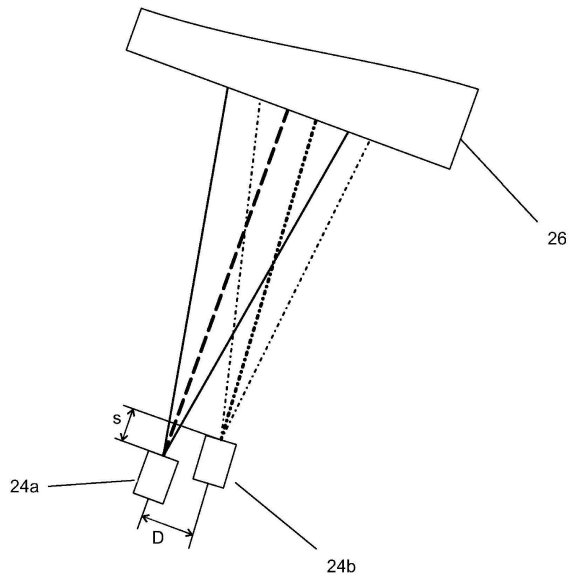


Fig. 8

【図 9】

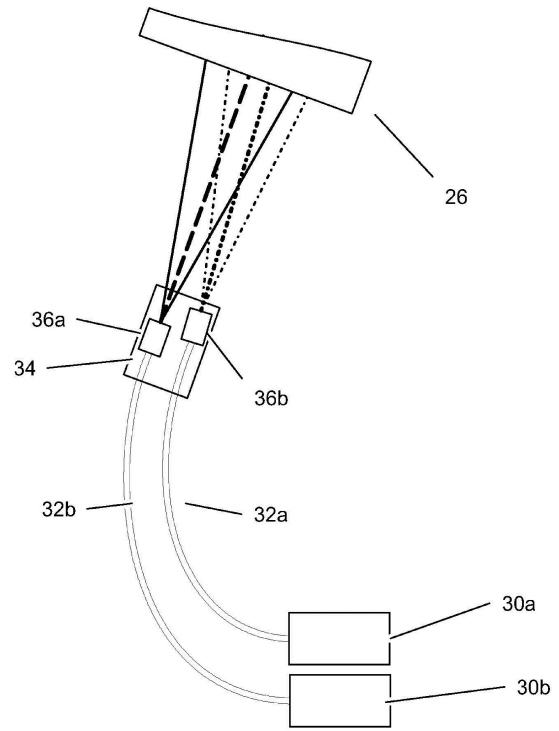


Fig. 9

【図 10】

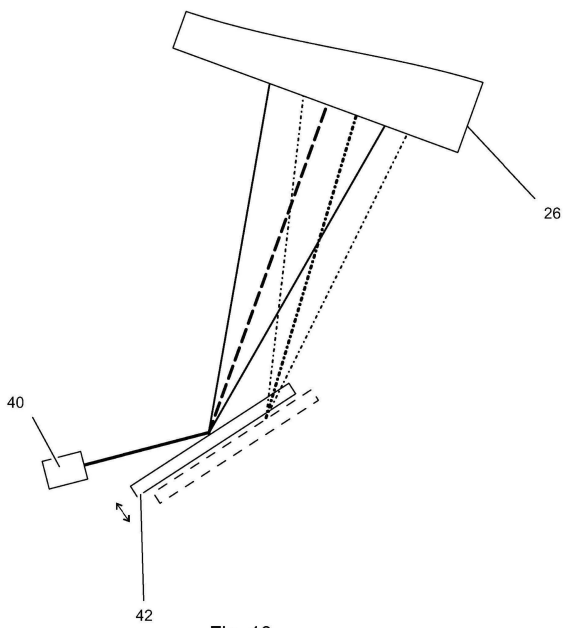


Fig. 10

【図 11】

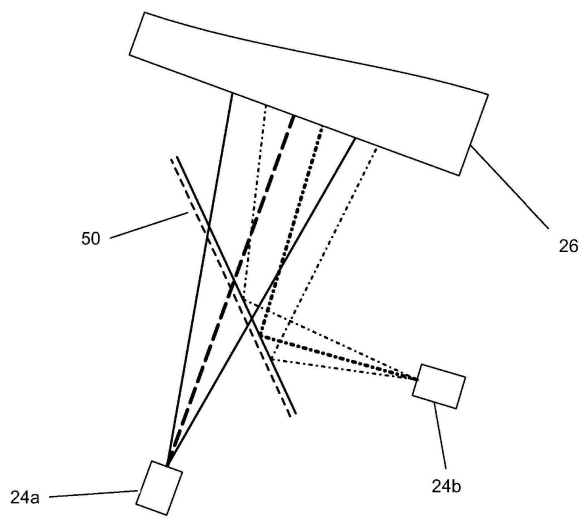


Fig. 11

【図 1 2】

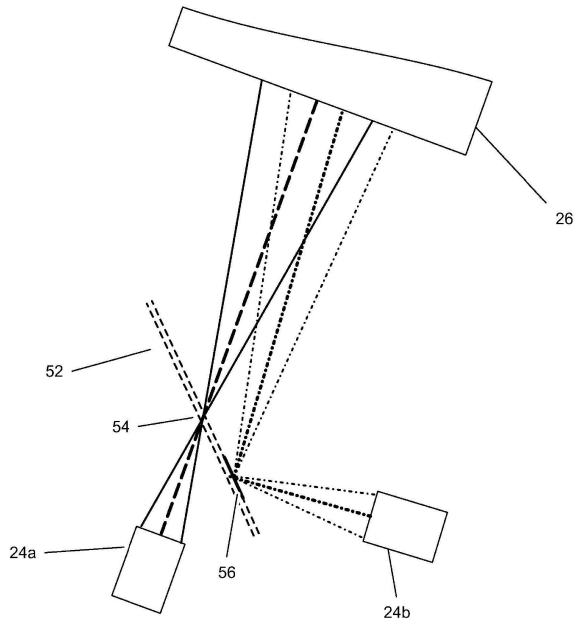


Fig. 12

【図 1 3】

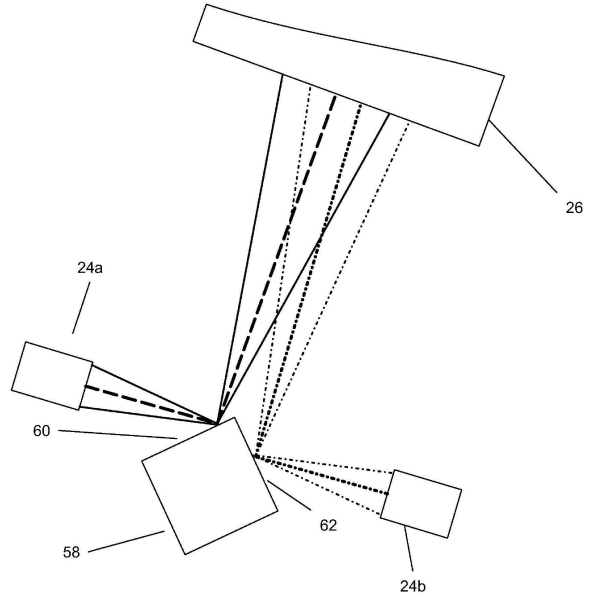


Fig. 13

【図 1 4】

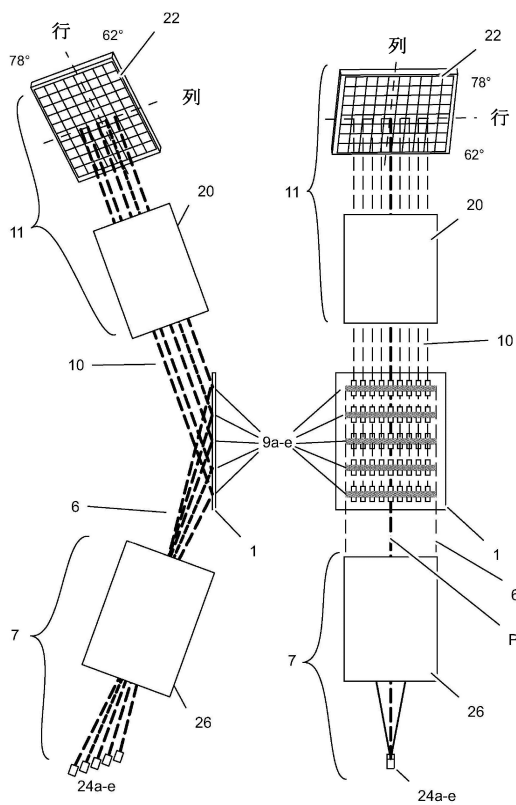


Fig. 14a

Fig. 14b

フロントページの続き

(72)発明者 スヨランダー、ステファン
スウェーデン、エス - 7 5 1 8 4 ・ ウプサラ、ラプスガタン・2 3、ジーイー・ヘルスケア

審査官 横井 亜矢子

(56)参考文献 特表2002 - 536638 (JP, A)
特開平02 - 017431 (JP, A)
特開平11 - 051857 (JP, A)
特開平09 - 292332 (JP, A)
特開2008 - 070391 (JP, A)
特表2001 - 504582 (JP, A)
特開2006 - 113021 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G 0 1 N 2 1 / 0 0 - 2 1 / 0 1
G 0 1 N 2 1 / 1 7 - 2 1 / 7 4
G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8