

(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
2017年8月10日(10.08.2017)



(10) 国際公開番号
WO 2017/134746 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 35/10 (2006.01) G01N 21/05 (2006.01)
G01N 1/00 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/053077
- (22) 国際出願日: 2016年2月2日(02.02.2016)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (71) 出願人: コニカミノルタ株式会社(KONICA MINOLTA, 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: 青木 洋一(AOKI, Youichi). 村山 貴紀(MURAYAMA, Takanori).
- (74) 代理人: 鷲田 公一(WASHIDA, Kimihito); 〒1600023 東京都新宿区西新宿1-23-7 新宿ファーストウェスト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).

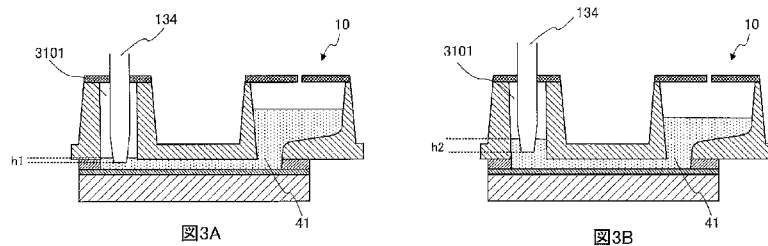
添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: LIQUID SENDING METHOD, AND DETECTION SYSTEM AND DETECTION DEVICE USING SAID METHOD

(54) 発明の名称: 送液方法、ならびにこれを行う検出システムおよび検出装置

[図3]



(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a method that makes it possible to send various liquids back and forth without allowing air to enter into a micro-channel and a detection system and detection device using said method. To obtain at least one of the above, this method is made to be one in which: a pipette tip is inserted into a liquid injection part of a detection chip having a micro-channel, the liquid injection part connected to one end of the micro-channel, and a reservoir connected to the other end of the micro-channel; the pipette tip injects and draws in liquid; and liquid is sent back and forth within the micro-channel. In this method, the following steps are carried out in the following order: a step for inserting the pipette tip into the liquid injection part to a position at which the leading end of the pipette tip is below the liquid surface when liquid is injected into the liquid injection part; a step for injecting liquid from the pipette tip into the liquid injection part; a step for creating negative pressure within the liquid injection part and raising the height of the surface of the liquid within the liquid injection part; and a step for drawing in the liquid within the liquid injection part using the pipette tip or for using the pipette tip to inject liquid into the liquid injection part and draw out the liquid within the liquid injection part.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2017/134746 A1



微細流路に空気を入り込ませることなく、各種液体を往復送液可能な方法や、これを行う検出システム、および検出装置を提供することを目的とする。上述した目的のうち、少なくとも一つを実現するために、微細流路と、前記微細流路の一端に接続された液体注入部と、前記微細流路の他端に接続された貯留部とを有する検出用チップの液体注入部にピペットチップを挿入し、ピペットチップにて液体を注入および吸引し、微細流路内に液体を往復送液する方法とする。このとき、ピペットチップを、液体注入部内に液体を注入した際に、ピペットチップの先端が液面より下方となる位置まで、液体注入部に挿入する工程と、ピペットチップから液体注入部内に液体を注入する工程と、液体注入部内に負圧を生じさせ、液体注入部内の液体の液面の高さを上昇させる工程と、ピペットチップにより液体注入部内の液体を吸引する、もしくはピペットチップにより液体注入部に液体を注入及び液体注入部内の液体を吸引する工程と、をこの順に行う。

明 細 書

発明の名称：

送液方法、ならびにこれを行う検出システムおよび検出装置

技術分野

[0001] 本発明は、微細流路に液体を供給する送液方法、ならびにこれを行う検出システムおよび検出装置に関する。

背景技術

[0002] 生化学検査において抗原抗体反応などの生化学反応が利用されている。例えば、蛍光免疫測定法（以下、「F I A」とも称する）では、被検出物質（抗原）に蛍光物質を含む標識物質を反応させる。その後、標識物質で標識された被検出物質に励起光を照射して、蛍光物質が発する蛍光を検出する。そして、検出された蛍光の強度などから、被検出物質の量を特定する。このようなF I Aの中でも、特に高感度に被検出物質の検出を行うことが可能な方法として、表面プラズモン励起増強蛍光分光測定方法（Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy、以下「S P F S」とも称する）が知られている。

[0003] S P F Sでは、被検出物質に特異的に結合できる第1の捕捉体（例えば1次抗体）を金属膜上に固定して、被検出物質を捕捉するための反応場を形成する。通常、反応場は微細な流路に形成する。そして、当該流路（反応場）に被検出物質を含む溶液を送液することで、第1の捕捉体に被検出物質を結合させる。次いで、蛍光物質で標識された第2の捕捉体（例えば2次抗体）を流路に送液することで、1次抗体に結合している被検出物質に、第2の抗体をさらに結合させる。つまり、被検出物質を、間接的に蛍光物質で標識する。この状態で金属膜に励起光を照射すると、蛍光物質が表面プラズモン共鳴（以下、「S P R」とも称する）により増強された局在場光により励起され、蛍光を放出する。そして、蛍光物質が放出した蛍光を検出することで、被検出物質を検出できる。

[0004] ここで、被検出物質が極少量のみ含まれる検体を用いる場合、上記流路に検体を往復送液することで、被検出物質と第1の捕捉体との接触機会を増やすことができ、第1の捕捉体に十分な量の被検出物質を結合させることができる。流路を洗浄するための洗浄剤や、第2の捕捉体についても、同様に往復送液することが好ましい。しかしながら、例えば図8の模式図に示すように、微細流路41に被検出物質501を含む検体（液体500）と共に空気が供給されると、第1の捕捉体502を気泡510が覆ってしまい、被検出物質501が第1の捕捉体502に結合できない。このような気泡510が存在すると、微細流路41の洗浄や、第2の捕捉体の結合も十分に行うことができなくなる。

[0005] そこで、検体や洗浄液、第2の抗体など、各種液体を微細流路に往復送液させる際、液体の注入および吸引のタイミングを調整することが提案されている（特許文献1）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2011/027851号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 特許文献1では、図9Aに示すように、ピペットチップ134により各種液体500を液体注入部3101に注入することで、微細流路41内に各種液体を供給している。また、図9Bに示すように、ピペットチップ134により、液体注入部3101内の液体500を吸引することで、液体500が、液体注入時と逆方向に微細流路41内を流れるようにしている。そして、液体500の注入及び吸引を繰り返すことで、液体500を微細流路41内に往復送液している。しかしながら、図9Bに示すように、液体500の吸引時にピペットチップ134内に空気が入り混みやすく、当該ピペットチップ134により液体500を再度注入すると、微細流路41内に空気が入り

込むとの課題がある。図9Cは、図9Bの破線で示される領域の部分拡大図面である。図9Cに示すように、液体500の供給後、液体注入部3101では、液面500Aが水平になり難い。そのため、液面10Aとピペットチップ134の先端との間に隙間が生じやすく、この状態で液体500を吸引すると、液体500と共に空気も吸引してしまう。つまり、特許文献1のように、液体の注入および吸引のタイミングを調整したとしても、検出チップの微細流路に空気が入り込むことを十分に抑制することは難しい。

[0008] このような課題に対し、検出チップの微細流路に空気を入り込ませることなく、微細流路内に液体を往復送液可能な送液方法、ならびにこれを行う検出システムおよび検出装置の提供が望まれている。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、検出チップの液体注入部にピペットチップを挿入し、液体を注入および吸引して、微細流路に液体を往復送液させる態様において、液体の注入後、液体注入部に負圧を生じさせることで、液体注入部内の液体の液面が上昇し、液体の吸引時に空気を吸引し難くなることを見出した。

[0010] すなわち、本発明の一実施形態に係る送液方法は、微細流路と、前記微細流路の一端に接続され、液体を注入するための液体注入部と、前記微細流路の他端に接続され、液体を一時的に貯留するための貯留部と、を有する検出用チップの前記液体注入部に、前記液体注入部が密閉状態となるようにピペットチップを挿入し、前記ピペットチップにて液体を注入および吸引し、前記微細流路内に液体を往復送液する送液方法である。このとき、前記ピペットチップを、前記液体注入部内に液体を注入した際、前記ピペットチップの先端が液面より下方となる位置まで、前記液体注入部に挿入する工程と、前記ピペットチップから前記液体注入部内に液体を注入する工程と、前記液体注入部内に負圧を生じさせ、前記液体注入部内の液体の液面の高さを上昇させる工程と、前記ピペットチップにより前記液体注入部内の液体を吸引する、もしくは前記ピペットチップにより前記液体注入部に液体を注入及び前記液体注入部内の液体を吸引する工程と、をこの順に行う。

[0011] また、本発明の一実施形態に係る検出システムは、微細流路と、前記微細流路の一端に接続され、液体を注入するための液体注入部と、前記微細流路の他端に接続され、液体を一時的に貯留するための貯留部とを有する検出用チップと、前記液体注入部内に液体を注入、および前記液体注入部から液体を吸引するためのピペットチップと、前記ピペットチップによる液体の注入および吸引を制御するための送液ポンプ駆動機構と、を有する検出システムであり、前記ピペットチップは、前記液体注入部内が密閉状態となり、かつ前記ピペットチップの先端が前記液体注入部内に注入する液体の液面より下方となるように挿入され、前記送液ポンプ駆動機構は、前記ピペットチップから前記液体注入部に液体を注入後、前記液体注入部内の密閉状態を維持した状態で、前記ピペットチップを軸方向に上昇させることで、前記液体注入部内の液体の液面の高さを上昇させ、前記ピペットチップにより前記液体注入部から液体を吸引する、もしくは前記ピペットチップにより前記液体注入部に液体を注入及び前記液体注入部内の液体を吸引する。

[0012] また、本発明の一実施形態に係る検出装置は、微細流路と、前記微細流路の一端に接続され、液体を注入するための液体注入部と、前記微細流路の他端に接続され、液体を一時的に貯留するための貯留部とを有する検出用チップを装着可能なチップホルダーと、前記チップホルダーに保持された前記検出用チップの前記液体注入部内に液体を注入、および前記液体注入部から液体を吸引するためのピペットチップと、前記ピペットチップによる液体の注入および吸引を制御するための送液ポンプ駆動機構と、を有し、前記ピペットチップは、前記液体注入部内が密閉状態となり、かつ前記ピペットチップの先端が前記液体注入部内に注入する前記液体の液面より下方となるように挿入され、前記送液ポンプ駆動機構は、前記ピペットチップから前記液体注入部に液体を注入後、前記液体注入部内の密閉状態を維持した状態で、前記ピペットチップを軸方向に上昇させることで、前記液体注入部内の前記液体の液面の高さを上昇させ、前記ピペットチップにより前記液体注入部から液体を吸引する、もしくは前記ピペットチップにより前記液体注入部に液体を

注入及び前記液体注入部内の液体を吸引する。

発明の効果

[0013] 本発明の送液方法や検出装置によれば、微細流路に空気を入り込ませることなく、微細流路内に液体を往復送液が可能となる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]図1は、本発明の一実施形態に係る検出装置（SPFS装置）の構成を示す模式図である。

[図2]図2は、本発明の一実施形態に係る検出装置の検出チップの一部を示す部分拡大図である。

[図3]図3Aおよび図3Bは、本発明の一実施形態に係る送液方法を示す模式図である。

[図4]図4は、本発明の一実施形態に係る送液方法のフローチャートであり、検出装置の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[図5]図5Aは、本発明の一実施形態の送液方法を行った際の時間経過（横軸）と、液体注入部内の圧力（縦軸）との関係を表すグラフであり、図5Bは、図5Aの点線枠内領域の拡大図であり、液体の液面を上昇させる工程におけるピペットチップの軸方向上側への移動量と、液体注入部内の圧力との関係を表すグラフである。

[図6]図6は、本発明の一実施形態に係る検出方法のフローチャートであり、検出装置の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[図7]図7は、回折格子を含む金属膜の斜視図である。

[図8]図8は、従来の送液方法を説明するための模式図である。

[図9]図9は、従来の送液方法を説明するための模式図である。

発明を実施するための形態

[0015] 本発明の一実施の形態を、以下、図面を参照して説明する。なお、以下の説明では、検出チップの代表例として、SPFSに用いる検出チップや、SPFS装置（検出装置もしくは検出システム）を説明するが、本発明の検出チップや検出装置はこれらに限定されない。

[0016] 図1は、本発明の一実施の形態に用いるSPFS装置100（検出システム）の構成を示す模式図である。図1に示すように、SPFS装置100は、励起光照射ユニット110、蛍光検出ユニット120、送液ユニット130、搬送ユニット140、および制御部150を有する。SPFS装置100では、搬送ユニット140のチップホルダー142に検出チップ10を装着した状態で、検出チップ10の金属膜30に表面プラズモン共鳴が発生するように励起光 α を照射し、表面プラズモン共鳴に基づく局在場光を発生させる。そして、当該局在場光により、金属膜30上に存在する蛍光物質を励起させ、蛍光物質が発する蛍光 β を検出することで、検体中の被検出物質の有無や量を測定する。なお、本実施形態では、検出チップ10が検出装置のチップホルダーに取り付けられており、検出チップ10が、検出装置から取り外し可能に形成されている。

[0017] 以下では、本実施形態に用いる検出チップや検出システム、検出装置について先に説明し、その後、検出チップに各種液体を送液する方法や、検出装置を用いた被検出物質の検出方法を説明する。

[0018] （検出チップ、検出システム、および検出装置）

図1に示すように、本実施形態の検出チップ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、プリズム20の成膜面22に形成された金属膜30と、プリズム20の成膜面22または金属膜30上に配置された流路蓋40とを有する。図1とは別の角度の検出チップ10の縦断面図を図2に示す。図2に示すように、流路蓋40は、金属膜30と対向する面に凹部を有する。そして、金属膜30と、流路蓋40とで囲まれた空間が、液体500（例えば検体）を往復送液させるための微細流路41、液体500を注入するための液体注入部3101、および液体500を一時的に貯留するための貯留部3102となる。

[0019] ここで、本実施形態の流路蓋40は、液体注入部3101、微細流路41、および貯留部3102に対応する凹部を有し、液体注入部3101の上部、および貯留部3102の上部に開口を有する枠体3110と、液体注入部

3101の上部を覆う液体注入部被覆シート3111と、貯留部上部を覆う貯留部被覆シート3112とを備える。

[0020] 本実施形態では、枠体3110が、光（例えば、蛍光 β 及びプラズモン散乱光 γ ）に対して透明な材料で形成されている。ただし、後述の検出方法における光の取り出しの妨げにならない限り、一部が光に対して不透明な材料で形成されていてもよい。光に対して透明な材料の例には、樹脂が含まれる。また本実施形態では、流路蓋40が、両面テープや接着剤などの接着層3115を介して金属膜30に接着されているが、流路蓋40は、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、検出チップ10の金属膜30またはプリズム20に接合されていてもよい。

[0021] 一方、液体注入部被覆シート3111は、ピペットチップ134を挿入可能であり、かつピペットチップ134を挿入した際には、ピペットチップ134の外周に密着し、液体注入部3101を密閉状態とすることが可能なシートからなる。なお、本明細書において、「液体注入部3101が密閉状態である」とは、液体注入部3101と外部とが直接連通していない状態をいう。液体注入部被覆シート3111は、例えば、弾性シートと粘着シートとの2層（図示せず）からなるシートとすることができる。また、液体注入部被覆シート3111は、ピペットチップ134を挿入するための微細な貫通孔を有していてもよい。本実施形態では、液体注入部被覆シート3111に外径が1.2mmの初期孔が設けられている。

[0022] 弾性シートは、例えば引張弾性定数が0.05~2GPa、引張破断伸度が200~2000%、引裂強度が80~3000mNであるポリウレタンシートとすることができるが、ピペットチップ134挿入時にピペットチップ134の外周に密着可能であれば、当該ポリウレタンシートに限定されない。ポリウレタンシート以外の弾性シートの例としては、低密度ポリエチレン（LDPE）、直鎖状低密度ポリエチレン（LLDPE）、中密度ポリエチレン（MDPE）、ナイロン、無延伸ポリプロピレン（CPP）、エチレン-ビニルアルコール共重合体（EVOH）、シリコーン、ポリビニルアル

コール（PVA）およびポリ塩化ビニル（PVC）などからなるシートが挙げられる。弾性シートの厚みは特に制限されないが、例えば100 μ m程度とすることができる。また、粘着シートは、弾性シートを枠体3110に貼着可能な材料からなるものであれば特に制限されない。

[0023] 一方、貯留部被覆シート3112は、金属膜30と流路蓋40とからなる空間（液体注入部3101、微細流路41、および貯留部3102からなる空間）内の圧力を調整するための通気孔3113を有するシートであればよい。貯留部被覆シート3112の材料は特に制限されず、前述の液体注入部被覆シート3111と同様の材料からなるものとすることができる。

[0024] ここで、微細流路41内の金属膜30には、第1の捕捉体が固定されている。第1の捕捉体は、検体中の被検出物質と特異的に結合するための認識部位を有する物質である。微細流路41内に第1の捕捉体が固定されていると、微細流路41内に検体を往復送液した際に、第1の捕捉体に被検出物質が選択的に結合する。つまり、被検出物質が微細流路41内に配置される。これにより、後述のように被検出物質を検出することが可能となる。ここで、金属膜30上に固定されている第1の捕捉体の種類は、被検出物質に特異的に結合するための認識部位を有していればよく、その種類は特に制限されない。

また、微細流路41の幅や高さは特に制限されず、検出チップ10の用途などに応じて適宜選択される。

[0025] 一方、金属膜30と流路蓋40とによって形成される液体注入部3101には、図3に示すように、ピペットチップ134が挿入される。そして、当該ピペットチップ134により液体注入部3101内に液体500を注入したり、ピペットチップ134により液体注入部3101内の液体500を吸引したりすることで、液体500を微細流路41内に往復送液する。液体注入部3101の容積や形状は、ピペットチップ134の形状に合わせて適宜選択される。ただし、本実施形態では、後述するように、液体500の往復送液の際に、ピペットチップ134を軸方向に上昇させて、液体注入部31

01内に負圧を生じさせる。そのため、液体注入部3101の内径はピペットチップ134の外径に対して適度な範囲であることが好ましい。本実施形態では、液体注入部3101の内径を10mm以下とし、さらにピペットチップ134の外径を1mm以上10mm未満としている。ここで、本明細書において、液体注入部3101の内径とは、液体注入部3101の内周側の径の最大値をいうこととし、液体注入部3101の断面は、円形でなくともよい。また、ピペットチップ134の外径とは、ピペットチップ134の外周側の径の最大値をいうこととし、ピペットチップ134の断面は、円形でなくともよい。

[0026] また、金属膜30と流路蓋40とによって形成される貯留部3102には、図3に示すように、液体500を微細流路41に往復送液する際、液体500が流入する。貯留部3102に流入した液体500は、貯留部3102内で攪拌される。貯留部3102内で液体500が攪拌されると、微細流路41を通過する液体（検体や洗浄液など）500の有効成分（例えば被検出物質や洗浄成分）の濃度が均一になり、微細流路41内で各種反応が生じやすくなったり、洗浄効果が高まったりする。なお、貯留部3102の容積や形状は、液体500の往復送液時に、液体500を十分に貯留可能であれば、特に制限されない。

[0027] 一方、検出チップ10が有するプリズム20は、励起光 α に対して透明な誘電体からなり、図1に示すように、入射面21、成膜面22および出射面23を有する。入射面21は、励起光照射ユニット110からの励起光 α をプリズム20の内部に入射させるための面である。また、成膜面22上には、金属膜30が配置されており、プリズム20の内部に入射した励起光 α は、金属膜30の裏面、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）にて反射する。一方、出射面23は、成膜面22にて反射した反射光をプリズム20の外部に出射させるための面である。

[0028] プリズム20の形状は、特に限定されない。本実施形態では、プリズム20の形状を、台形を底面とする柱体とする。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。

[0029] 入射面 21 は、励起光 α が励起光照射ユニット 110 に戻らないように形成される。励起光 α の光源がレーザーダイオード（以下「LD」ともいう）である場合、励起光 α が LD に戻ると、LD 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。そこで、理想的な共鳴角または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。ここで「共鳴角」とは、金属膜 30 に対する励起光 α の入射角を走査した場合に、出射面 23 から出射される反射光の光量が最小となるときの、入射角を意味する。また、「増強角」とは、金属膜 30 に対する励起光 α の入射角を走査した場合に、検出チップ 10 の上方に放出される励起光 α と同一波長の散乱光（以下「プラズモン散乱光」という） γ の光量が最大となるときの、入射角を意味する。本実施形態では、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。

[0030] なお、検出チップ 10 の設計により、共鳴角（およびその極近傍にある増強角）が概ね決まる。設計要素は、プリズム 20 の屈折率や、金属膜 30 の屈折率、金属膜 30 の膜厚、金属膜 30 の消衰係数、励起光 α の波長などである。金属膜 30 上に第 1 の捕捉体を介して捕捉された被検出物質によって共鳴角および増強角がシフトするが、その量は数度未満である。

[0031] プリズム 20 は、複屈折特性を少なからず有する。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。

[0032] 金属膜 30 は、プリズム 20 の成膜面 22 上に配置されている。これにより、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（SPR）が生じ、金属膜 30 の表面上に局在場

光（一般に「エバネッセント光」または「近接場光」とも呼ばれる）が生じる。

[0033] 金属膜30の材料は、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の材料の例には、金、銀、銅、アルミ、これらの合金が含まれる。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の範囲内であることが好ましい。

[0034] なお、検出チップ10は、通常、測定のために交換される。また、検出チップ10は、好ましくは各片の長さが数mm～数cmの構造物であるが、「チップ」の範疇に含まれないより小型の構造物またはより大型の構造物であってもよい。

[0035] 次に、SPFS装置100の検出チップ以外の構成要素について説明する。前述のとおり、SPFS装置100は、励起光照射ユニット110、蛍光検出ユニット120、送液ユニット130、搬送ユニット140および制御部150を有する。

[0036] 励起光照射ユニット110は、チップホルダー142に保持された検出チップ10に励起光 α を照射する。蛍光 β またはプラズモン散乱光 γ の測定時には、励起光照射ユニット110は、金属膜30に対する入射角がSPRを生じさせる角度となるように、金属膜30に対するP波のみを入射面21に向けて出射する。ここで「励起光」とは、蛍光物質を直接または間接的に励起させる光である。たとえば、励起光 α は、プリズム20を介して金属膜30にSPRが生じる角度で照射されたときに、蛍光物質を励起させる局在場光を金属膜30の表面上に生じさせる光である。励起光照射ユニット110は、光源ユニット111、角度調整機構112および光源制御部113を含む。

[0037] 光源ユニット111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、金属膜30裏面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。光源ユニット 1 1 1 は、例えば、励起光 α の光源、ビーム整形光学系、A P C 機構および温度調整機構（いずれも不図示）を含む。

[0038] 光源の種類は、特に限定されず、一例として、レーザーダイオード（L D）が挙げられる。光源の他の例には、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。

[0039] ビーム整形光学系は、例えば、コリメーターやバンドパスフィルター、直線偏光フィルター、半波長板、スリット、ズーム手段などを含む。ビーム整形光学系は、これらのすべてを含んでいてもよいし、一部を含んでいてもよい。コリメーターは、光源から出射された励起光 α をコリメートする。バンドパスフィルターは、光源から出射された励起光 α を中心波長のみの狭帯域光にする。光源からの励起光 α は、若干の波長分布幅を有しているためである。直線偏光フィルターは、光源から出射された励起光 α を完全な直線偏光の光にする。半波長板は、金属膜 3 0 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。スリットおよびズーム手段は、金属膜 3 0 裏面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。

[0040] A P C 機構は、光源の出力が一定となるように光源を制御する。より具体的には、A P C 機構は、励起光 α から分岐させた光の光量を不図示のフォトダイオードなどで検出する。そして、A P C 機構は、回帰回路で投入エネルギーを制御することで、光源の出力を一定に制御する。

[0041] 温度調整機構は、例えば、ヒーターやペルチェ素子などである。光源の出射光の波長およびエネルギーは、温度によって変動することがある。このため、温度調整機構で光源の温度を一定に保つことにより、光源の出射光の波

長およびエネルギーを一定に制御する。

- [0042] 角度調整機構 112 は、金属膜 30（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。角度調整機構 112 は、プリズム 20 を介して金属膜 30 の所定の位置に向けて所定の入射角で励起光 α を照射するために、励起光 α の光軸とチップホルダー 142 とを相対的に回転させる。
- [0043] たとえば、角度調整機構 112 は、光源ユニット 111 を励起光 α の光軸と直交する軸（図 1 の紙面に対して垂直な軸）を中心として回動させる。このとき、入射角を走査しても金属膜 30 上での照射スポットの位置がほとんど変化しないように、回転軸の位置を設定する。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。
- [0044] 前述のとおり、金属膜 30 に対する励起光 α の入射角のうち、プラズモン散乱光 γ の光量が最大となる角度が増強角である。励起光 α の入射角を増強角またはその近傍の角度に設定することで、高強度の蛍光 β を測定することが可能となる。検出チップ 10 のプリズム 20 の材料および形状、金属膜 30 の膜厚、微細流路 41 内の液体 500 の屈折率などにより、励起光 α の基本的な入射条件が決まるが、微細流路 41 内の蛍光物質の種類および量、プリズム 20 の形状誤差などにより、最適な入射条件はわずかに変動する。このため、測定ごとに最適な増強角を求めることが好ましい。
- [0045] 光源制御部 113 は、光源ユニット 111 に含まれる各種機器を制御して、光源ユニット 111 からの励起光 α の出射を制御する。光源制御部 113 は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。
- [0046] 蛍光検出ユニット 120 は、金属膜 30 への励起光 α の照射によって生じた蛍光 β を検出する。また、必要に応じて、蛍光検出ユニット 120 は、金属膜 30 への励起光 α の照射によって生じたプラズモン散乱光 γ も検出する

。蛍光検出ユニット120は、受光ユニット121、位置切替え機構122およびセンサー制御部123を含む。

[0047] 受光ユニット121は、検出チップ10の金属膜30の法線方向に配置される。受光ユニット121は、第1レンズ124、光学フィルター125、第2レンズ126および受光センサー127を含む。

[0048] 第1レンズ124は、例えば、集光レンズであり、金属膜30上から出射される光を集光する。第2レンズ126は、例えば、結像レンズであり、第1レンズ124で集光された光を受光センサー127の受光面に結像させる。両レンズの間の光路は、略平行な光路になっている。光学フィルター125は、両レンズの間に配置されている。

[0049] 光学フィルター125は、蛍光成分のみを受光センサー127に導き、高いS（シグナル）／N（ノイズ）比で蛍光 β を検出するために、励起光成分（プラズモン散乱光 γ ）を除去する。光学フィルター125の例には、励起光反射フィルター、短波長カットフィルターおよびバンドパスフィルターが含まれる。光学フィルター125は、例えば、所定の光成分を反射する多層膜を含むフィルター、または所定の光成分を吸収する色ガラスフィルターである。

[0050] 受光センサー127は、蛍光 β およびプラズモン散乱光 γ を検出する。受光センサー127は、微量の被検出物質からの微弱な蛍光 β を検出することが可能な、高い感度を有する。受光センサー127は、例えば、光電子増倍管（PMT）やアバランシェフォトダイオード（APD）などである。

[0051] 位置切替え機構122は、光学フィルター125の位置を、受光ユニット121における光路上または光路外に切替える。具体的には、受光センサー127が蛍光 β を検出する時には、光学フィルター125を受光ユニット121の光路上に配置し、受光センサー127がプラズモン散乱光 γ を検出する時には、光学フィルター125を受光ユニット121の光路外に配置する。

[0052] センサー制御部123は、受光センサー127の出力値の検出や、検出し

た出力値による受光センサー127の感度の管理、適切な出力値を得るための受光センサー127の感度の変更、などを制御する。センサー制御部123は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

[0053] 送液ユニット130は、チップホルダー142に保持された検出チップ10の液体注入部3101内に、各種液体500を供給し、往復送液する。本実施形態では、例えば検体や、洗浄液、蛍光物質で標識された第2の捕捉体を含む標識液（以下、「標識液」とも称する）などを液体注入部3101内に供給する。送液ユニット130は、液体チップ131、シリンジポンプ132および送液ポンプ駆動機構133を含む。

[0054] 液体チップ131は、検体や洗浄液、標識液などの液体をそれぞれ収容するための容器である。液体チップ131としては、通常、複数の容器が液体の種類に応じて配置されるか、または複数の容器が一体化したチップが配置される。

[0055] 送液ユニット130におけるシリンジポンプ132は、ピペットチップ134と、シリンジポンプ132内を往復動作可能なプランジャー135とを有する。プランジャー135の往復運動によって、ピペットチップ134から液体の吸引および排出が定量的に行われる。ピペットチップ134が交換可能であると、ピペットチップ134の洗浄が不要となる。このため、不純物の混入などを防止する観点から好ましい。ピペットチップ134が交換可能に構成されていない場合は、ピペットチップ134内を洗浄する構成をさらに付加することにより、ピペットチップ134を交換せずに使用することが可能となる。

[0056] 本実施形態では、ピペットチップ134を検出チップ10の液体注入部3101内に挿入した際、液体注入部3101内を密閉状態とする必要がある。そこで、ピペットチップ134のうち、検出チップ10の蓋部40の液体注入部被覆シート3111と接触する領域は、外径が一定であることが好ましく、円柱形状であることが好ましい。なお、液体注入部被覆シート311

1と接触しない領域では、外径が一定である必要はなく、任意の形状とすることができる。

[0057] 送液ポンプ駆動機構133は、プランジャー135の駆動装置、およびシリンジポンプ132の移動装置を含む。プランジャー135の駆動装置は、プランジャー135を往復運動させるための装置であり、例えば、ステッピングモーターを含む。ステッピングモーターを含む駆動装置は、シリンジポンプ132の送液量や送液速度を管理できるため、検出チップ10の残液量を管理する観点から好ましい。シリンジポンプ132の移動装置は、例えば、シリンジポンプ132を、ピペットチップ134の軸方向（例えば垂直方向）と、軸方向を横断する方向（例えば水平方向）との二方向に自在に動かす。シリンジポンプ132の移動装置は、例えば、ロボットアーム、2軸ステージまたは上下動自在なターンテーブルによって構成される。

[0058] 送液ポンプ駆動機構133は、シリンジポンプ132やシリンジポンプ132内のプランジャー135を駆動して、液体チップ131から各種液体500を吸引する。そして、シリンジポンプ132を移動させて、検出チップ10の液体注入部3101内にピペットチップ134を挿入し、各種液体500を注入する。このとき、図3Aに示すように、液体500を液体注入部3101に供給した後、ピペットチップ134の先端が、液体注入部3101内における液体500の液面より低くなるようにシリンジポンプ132（ピペットチップ134）の軸方向の位置を制御する。また、液体500の供給後、送液ポンプ駆動機構133は、図3Bに示すように、ピペットチップ134を軸方向上側に移動させ、液体注入部内に負圧を発生させる。そして、この状態でプランジャー135を動かして、液体500を吸引、もしくは液体500の注入及び吸引を行う。そして、液体500の注入と吸引とを繰り返すことで、液体500を微細流路41内に往復送液する。当該往復送液によって、微細流路41内を洗浄したり、微細流路41内において、第1の捕捉体と被検出物質を反応させたり、被検出物質と蛍光物質で標識された第2の捕捉体とを反応させたりする。

[0059] また、搬送ユニット140は、検出チップ10を測定位置または送液位置に搬送し、固定する。ここで「測定位置」とは、励起光照射ユニット110が検出チップ10に励起光 α を照射し、それに伴い発生する蛍光 β またはプラズモン散乱光 γ を蛍光検出ユニット120が検出する位置である。また、「送液位置」とは、送液ユニット130が検出チップ10の液体注入部3101内に液体を供給するか、または検出チップ10の流路41内の液体を液体注入部3101から吸引（除去）する位置である。搬送ユニット140は、搬送ステージ141およびチップホルダー142を含む。チップホルダー142は、搬送ステージ141に固定されており、検出チップ10を着脱可能に保持する。チップホルダー142の形状は、検出チップ10を保持することが可能であり、かつ励起光 α 、蛍光 β およびプラズモン散乱光 γ の光路を妨げない形状である。たとえば、チップホルダー142には、励起光 α 、蛍光 β およびプラズモン散乱光 γ が通過するための開口が設けられている。搬送ステージ141は、チップホルダー142を一方向およびその逆方向に移動させる。搬送ステージ141も、励起光 α 、蛍光 β およびプラズモン散乱光 γ の光路を妨げない形状である。搬送ステージ141は、例えば、ステッピングモーターなどで駆動される。

[0060] 制御部150は、角度調整機構112、光源制御部113、位置切替え機構122、センサー制御部123、送液ポンプ駆動機構133および搬送ステージ141を制御する。制御部150は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

[0061] （検出チップへの液体の送液方法）

次に上記検出チップ10に各種液体500を送液する方法を説明する。図4は、本実施形態の検出方法を行う際のSPFS装置100の動作手順の一例を示すフローチャートである。また、図5Aに、本実施形態の送液方法を行った際の時間経過（横軸）と、液体注入部3101内の圧力（縦軸）との関係を示す。なお、図5Aの縦軸の値は、ピペットチップ挿入時の液体注入

部3101内の圧力を基準(0kPa)としたときの差圧である。

[0062] まず、SPFS装置100の送液ポンプ駆動機構133は、シリンジポンプ132やシリンジポンプ132内のプランジャー135を駆動して、液体チップ131から各種液体500を吸引する。そして、検出チップ10の液体注入部3101にピペットチップ134を挿入する(工程S110)。このとき、図3Aに示すように、液体500の供給後にピペットチップ134の先端が、液体注入部3101内に注入された液体500の液面より低くなるように、ピペットチップ134の挿入位置を制御する。なお、図5Aに示すように、液体注入部3101内にピペットチップ134を挿入しても、貯留部被覆シート3112が通気孔3113を有するため、液体注入部3101内の圧力は、殆ど変化しない。

[0063] 続いて、送液ポンプ駆動機構133は、プランジャー135を駆動して、ピペットチップ134から液体注入部3101内に所望の量の液体500を供給する(工程S120)。これにより、図5Aに示すように、液体供給部3101内に圧力がかかり、液体供給部3101から微細流路41に液体500が流入する。この際、液体500を全て吐出してもよく、一部のみ吐出してもよい。

[0064] その後、送液ポンプ駆動機構133は、シリンジポンプ132の軸方向の位置を制御し、液体注入部内の密閉状態を維持した状態で、ピペットチップ134を軸方向上側に移動させる。これにより、図5Aに示すように、液体注入部3101内に負圧が発生し、液体注入部3101内の液体500の液面が上昇する(工程S130)。またこれにより、図3Aに示すように、ピペットチップ134先端から液面までの距離(図3Bにおいて h_2 で表される高さ)が、負圧発生前のピペットチップ134先端から液面までの距離(図3Aにおいて h_1 で表される高さ)より大きくなる。つまり、ピペットチップ134の先端が十分に液体500内に埋没する。ここで、図5Bに、液体500の液面を上昇させる工程(工程S130)における、ピペットチップ134の軸方向上側への移動量と、液体注入部3101内の圧力変化との

関係を示す。なお、図5Bは、図5Aの点線枠内領域の拡大図であり、図5Bの縦軸の値は、ピペットチップ134挿入時の液体注入部3101内の圧力を基準(0kPa)としたときの差圧である。図5Bに示すように、ピペットチップ134を軸方向上側に大きく移動させるほど、大きな負圧が発生し、液体注入部3101内の圧力が低下する。その結果、液面がより大きく上昇し、ピペットチップ134先端が液体500内に埋没しやすくなる。そして、後述する液体500の吸引工程において、液体500と共に空気を吸引し難くなる。本実施形態では、ピペットチップ134を1000 μ m以下、軸方向上側に移動させる。なお十分に負圧を生じさせるとの観点から、ピペットチップ134の軸方向上側への移動距離は100~500 μ mとすることがより好ましい。またピペットチップ134の移動により生じる液体注入部内部の減圧量は、液面を適度に上昇させるとの観点から、1.0kPa以下であることが好ましい。

[0065] 続いて、送液ポンプ駆動機構133は、プランジャー135を駆動して、液体注入部3101内の液体500をピペットチップ134により吸引、もしくはピペットチップ134により液体500を注入及び吸引する(工程S140)。液体500を吸引する際、液体注入部3101内の液体を全て吸引してもよく、一部のみ吸引してもよい。また、工程S120において、ピペットチップ134内の液体500を一部のみ吐出した場合、ピペットチップ134内には、液体500が残存している。そこで、本工程において、ピペットチップ134内に残存している液体500を吐出してもよい。

[0066] そして、液体の吐出および吸引(工程S140)を必要な回数繰り返し、液体500を微細流路41内に往復送液する。これにより、例えば第1の捕捉体に被検出物質を結合させたり、微細流路を洗浄したり、第1の捕捉体に結合した被検出物質にさらに第2の捕捉体を結合させたりすることが可能となる。また、往復送液を行うことで、ピペットチップ134内、もしくは貯留部3101において液体が攪拌され、微細流路41内に提供される液体の濃度を均一化したり、微細流路41内における反応(例えば抗原抗体反応)

を促進させたりすることも可能となる。

[0067] そして最終的に、送液ポンプ駆動機構133は、プランジャー135を駆動して、液体注入部3101、微細流路41、および貯留部3102内の液体を吸引する。その後、液体注入部3101からピペットチップ134を移動させて、液体500を液体チップ131などに排出する。

[0068] (検出方法)

続いて、前述の検出装置(検出システム)を用いた被検出物質の検出方法を説明する。図6は、本実施形態の検出方法を行う際のSPFS装置100の動作手順の一例を示すフローチャートである。

[0069] まず、検出の準備をする(工程S10)。具体的には、SPSF装置100のチップホルダー142に前述の検出チップ10を設置する。また、検出チップ10の流路41内に保湿剤が存在する場合には、流路41内を洗浄して保湿剤を除去する。

[0070] 次に、検出チップ10の金属膜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(工程S20)。具体的には、制御部150が、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を設置位置から検出位置に移動させる。この後、制御部150が、光源制御部113および角度調整部112を制御して、光源ユニット111から励起光 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。このとき、制御部150は、位置切替え機構122を制御して、光学フィルター125を受光ユニット121の光路外に移動させる。これとともに、制御部150は、センサー制御部123を制御して、受光センサー127でプラズモン散乱光 γ を検出する。制御部150は、励起光 α の入射角とプラズモン散乱光 γ の強度との関係を含むデータを得る。そして、制御部150は、データを解析して、プラズモン散乱光 γ の強度が最大となる入射角(増強角)を決定する。最後に、制御部150は、角度調整部112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。

- [0071] ここで、上記増強角は、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、微細流路41内の液体の種類および量、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、検出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。
- [0072] 次に、検出チップ10の微細流路41に前述の送液方法により検体を提供し、検出チップ10内の金属膜30上に固定された第1の捕捉体に、検体中に含まれる被検出物質を特異的に結合させる（1次反応（工程S30））。なお、被検出物質の結合後、微細流路41内には、前述の送液方法により緩衝液などを提供し、微細流路41内を洗浄して、遊離の被検出物質などを除去する。
- [0073] ここで、本実施形態で微細流路41に提供する検体および被検出物質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。またこれらの検体に含まれる被検出物質の例には、核酸（DNAやRNAなど）、タンパク質（ポリペプチドやオリゴペプチドなど）、アミノ酸、糖質、脂質およびこれらの修飾分子が含まれる。
- [0074] 上記1次反応後、光学ブランク値を測定する（工程S40）。具体的には、制御部150が、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を設置位置から検出位置に移動させる。この後、制御部150が、光源制御部113を制御して、金属膜30（成膜面22）に向けて光源ユニット111から、増強角で励起光 α を出射させる。これと同時に、制御部150は、センサー制御部123を制御して、受光センサー127で光の光量を検出し、これをブランク値として記録する。
- [0075] 続いて、金属膜30上の第1の捕捉体に結合した被検出物質に、蛍光物質で標識された第2の捕捉体を結合させる（2次反応（工程S50））。具体的には、制御部150が、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を検出位置から送液位置に移動させる。この後、制御部150は、送液ポン

プ駆動機構 133 を制御して、第 2 の捕捉体を含む標識液を前述の送液方法により微細流路 41 内に提供する。ここで、第 2 の捕捉体は、被検出物質の、第 1 の捕捉体が特異的に結合する部位とは異なる部位に、特異的に結合する物質である。また、当該第 2 の捕捉体には、蛍光物質が結合している。したがって、標識液を微細流路 41 に提供すると、第 1 の捕捉体に結合している被検出物質に第 2 の捕捉体の特異的に結合し、被検出物質が、間接的に蛍光物質で標識される。なお、被検出物質を蛍光物質で標識後、微細流路 41 内には、前述の送液方法により緩衝液などを提供し、微細流路 41 内を洗浄して、遊離の第 2 の捕捉体などを除去する。

[0076] ここで、第 2 の捕捉体は、第 1 の捕捉体が被検出物質に特異的に結合する部位とは異なる部位に、特異的に結合する物質であればよく、被検出物質に特異的な生体分子であってもよく、その断片などであってもよい。また、第 2 の捕捉体は、1 分子からなるものであってもよく、2 以上の分子が複合した複合体であってもよい。

[0077] 次に、微細流路 41 の底面（金属膜 30）上に、蛍光物質で標識された被検出物質が第 1 の捕捉体を介して配置された状態で、プリズム 20 を通して励起光 α を増強角で金属膜 30（成膜面 22）に照射する。そして、被検出物質を標識する蛍光物質からの蛍光値を測定する（測定工程（工程 S60））。具体的には、制御部 150 が、搬送ステージ 141 を制御して、検出チップ 10 を送液位置から検出位置に移動させる。この後、制御部 150 は、光源制御部 113 を制御して、金属膜 30（成膜面 22）に向けて光源ユニット 111 から励起光 α を出射させる。これと同時に、制御部 150 は、センサー制御部 123 を制御して、受光センサー 127 で蛍光 β と同じ波長の光の光量を検出する。

[0078] 最後に、被検出物質の存在または量を算出する（工程 S70）。蛍光値は、主として、被検出物質を標識する蛍光物質に由来する蛍光成分（シグナル値）と、光学ブランク値とを含む。したがって、制御部 150 は、工程 S60 で得られた蛍光値から工程 S40 で得られた光学ブランク値を引くことで

、被検出物質の量に相関するシグナル値を算出することができる。そして、あらかじめ作成しておいた検量線により、被検出物質の量や濃度などに換算する。

[0079] (その他の実施形態)

上述の送液方法では、液体注入部3101内に負圧を発生させる工程(工程S130)において、ピペットチップ134を軸方向上方に移動させることで、負圧を発生させる形態を説明したが、流路蓋40の液体注入部被覆シート3111を変形させるなど、他の方法により液体注入部3101に負圧を発生させることもできる。

[0080] また、上記では、金属膜30が形成されたプリズム20を使用し、光子と表面プラズモンとを結合(カップリング)させるプリズムカップリング(PC)-SPFS(検出方法)および検出装置について説明した。しかし、本発明に係る検出方法および検出チップは、この形態に限定されない。図7は、回折格子を含む金属膜30aの斜視図である。本発明に係る検出方法および検出装置では、図7に示されるように、回折格子を含む金属膜30aを有する検出チップを使用してもよい。この場合も、光子と表面プラズモンとを結合させ、金属膜30aからプラズモン散乱光 γ を放出させることができる。この場合、プリズム20は不要である。また、光照射ユニット110は、検出チップの金属膜30a側に配置され、蛍光 β の検出工程およびプラズモン散乱光 γ の検出工程では、回折格子に向けて励起光 α を照射する。

[0081] また、上記実施形態では、SPFS装置を利用した検出方法や検出装置を説明したが、検出方法や検出装置は、これらに限定されない。被検出物質の検出方法は、ELISA法や、RIFS法、SPR法、QCMなどにも適用できる。

[0082] (効果)

前述のように、通常送液方法で各種液体を微細流路に往復送液すると、液体の吸引時にピペットチップ内に気泡が入り込みやすく、ピペットチップから液体を再度微細流路内に供給すると、液体と共に気泡が微細流路内に入

り込みやすい。そして、微細流路内に気泡が入り込むと、被検出物質の検出精度等が低下しやすい。これに対し、本実施形態の送液方法で、各種液体を微細流路内に往復送液すると、液体の吸引時に気泡が入り込み難く、再度液体を供給しても、微細流路に空気が入り込み難い。したがって、被検出物質を精度良く検出することなどが可能となる。

産業上の利用可能性

[0083] 本発明に係る送液方法や検出システム、検出装置によれば、微細流路に空気を入り込ませることなく、各種液体を往復送液することができる。したがって、各種被検出物質を検出するための検出装置や、検出装置に検体などを送液する方法として、非常に有用である。

符号の説明

- [0084] 10 検出チップ
- 20 プリズム
- 21 入射面
- 22 成膜面
- 23 出射面
- 30 金属膜
- 40 流路蓋
- 41 微細流路
- 100 SPFS装置
- 110 励起光照射ユニット
- 111 光源ユニット
- 112 角度調整機構
- 113 光源制御部
- 120 蛍光検出ユニット
- 121 受光ユニット
- 122 位置切替え機構
- 123 センサー制御部

- 1 2 4 第1レンズ
- 1 2 5 光学フィルター
- 1 2 6 第2レンズ
- 1 2 7 受光センサー
- 1 3 0 送液ユニット
- 1 3 1 液体チップ
- 1 3 2 シリンジポンプ
- 1 3 3 送液ポンプ駆動機構
- 1 3 4 ピペットチップ
- 1 3 5 プランジャー
- 1 4 0 搬送ユニット
- 1 4 1 搬送ステージ
- 1 4 2 チップホルダー
- 1 5 0 制御部
- 5 0 0 液体
- 3 1 0 1 液体注入部
- 3 1 0 2 貯留部
- 3 1 1 0 枠体
- 3 1 1 1 液体注入部被覆シート
- 3 1 1 2 貯留部被覆シート
- α 励起光
- β 蛍光
- γ プラズモン散乱光

請求の範囲

- [請求項1] 微細流路と、前記微細流路の一端に接続され、液体を注入するための液体注入部と、前記微細流路の他端に接続され、液体を一時的に貯留するための貯留部と、を有する検出用チップの前記液体注入部に、前記液体注入部が密閉状態となるようにピペットチップを挿入し、前記ピペットチップにて液体を注入および吸引し、前記微細流路内に液体を往復送液する送液方法であって、
- 前記ピペットチップを、前記液体注入部内に液体を注入した際、前記ピペットチップの先端が液面より下方となる位置まで、前記液体注入部に挿入する工程と、
- 前記ピペットチップから前記液体注入部内に液体を注入する工程と、
- 、
- 前記液体注入部内に負圧を生じさせ、前記液体注入部内の液体の液面の高さを上昇させる工程と、
- 前記ピペットチップにより前記液体注入部内の液体を吸引する、もしくは前記ピペットチップにより前記液体注入部に液体を注入及び前記液体注入部内の液体を吸引する工程と、をこの順に行う、
- 送液方法。
- [請求項2] 前記液体注入部内の液体の液面の高さを上昇させる工程では、前記ピペットチップを軸方向に上昇させて、前記液体注入部内に負圧を生じさせる、
- 請求項1に記載の送液方法。
- [請求項3] 前記液体注入部の内径が10mm以下であり、かつ前記ピペットチップの外径が1mm以上10mm未満である、
- 請求項1または2に記載の送液方法。
- [請求項4] 微細流路と、前記微細流路の一端に接続され、液体を注入するための液体注入部と、前記微細流路の他端に接続され、液体を一時的に貯留するための貯留部とを有する検出用チップと、

前記液体注入部内に液体を注入、および前記液体注入部から液体を吸引するためのピペットチップと、

前記ピペットチップによる液体の注入および吸引を制御するための送液ポンプ駆動機構と、

を有する検出システムであり、

前記ピペットチップは、前記液体注入部内が密閉状態となり、かつ前記ピペットチップの先端が前記液体注入部内に注入する液体の液面より下方となるように挿入され、

前記送液ポンプ駆動機構は、前記ピペットチップから前記液体注入部に液体を注入後、前記液体注入部内の密閉状態を維持した状態で、前記ピペットチップを軸方向に上昇させることで、前記液体注入部内の液体の液面の高さを上昇させ、前記ピペットチップにより前記液体注入部内の液体を吸引する、もしくは前記ピペットチップにより前記液体注入部に液体を注入及び前記液体注入部内の液体を吸引する、

検出システム。

[請求項5]

微細流路と、前記微細流路の一端に接続され、液体を注入するための液体注入部と、前記微細流路の他端に接続され、液体を一時的に貯留するための貯留部とを有する検出用チップを装着可能なチップホルダーと、

前記チップホルダーに保持された前記検出用チップの前記液体注入部内に液体を注入、および前記液体注入部から液体を吸引するためのピペットチップと、

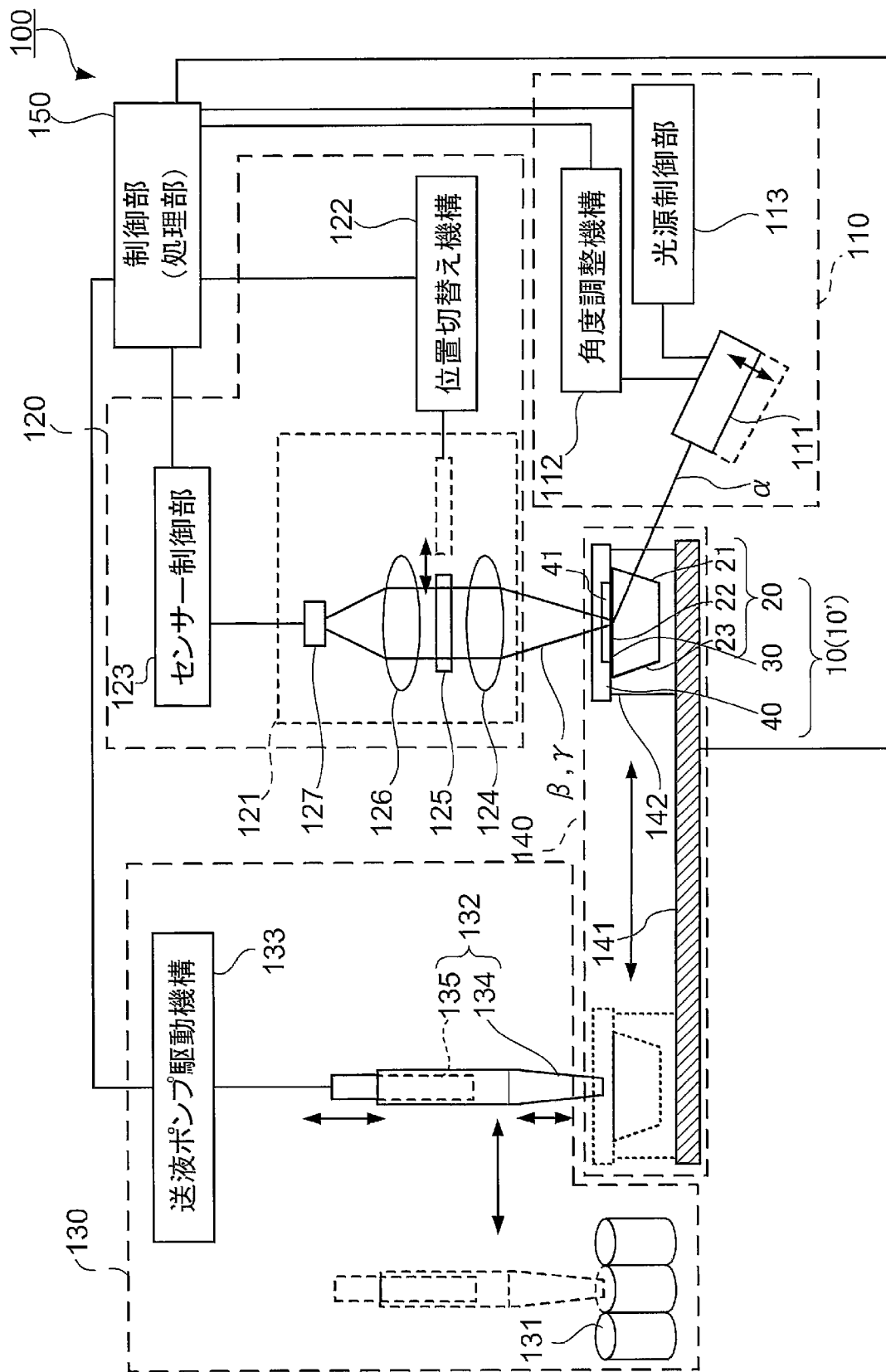
前記ピペットチップによる液体の注入および吸引を制御するための送液ポンプ駆動機構と、

を有し、

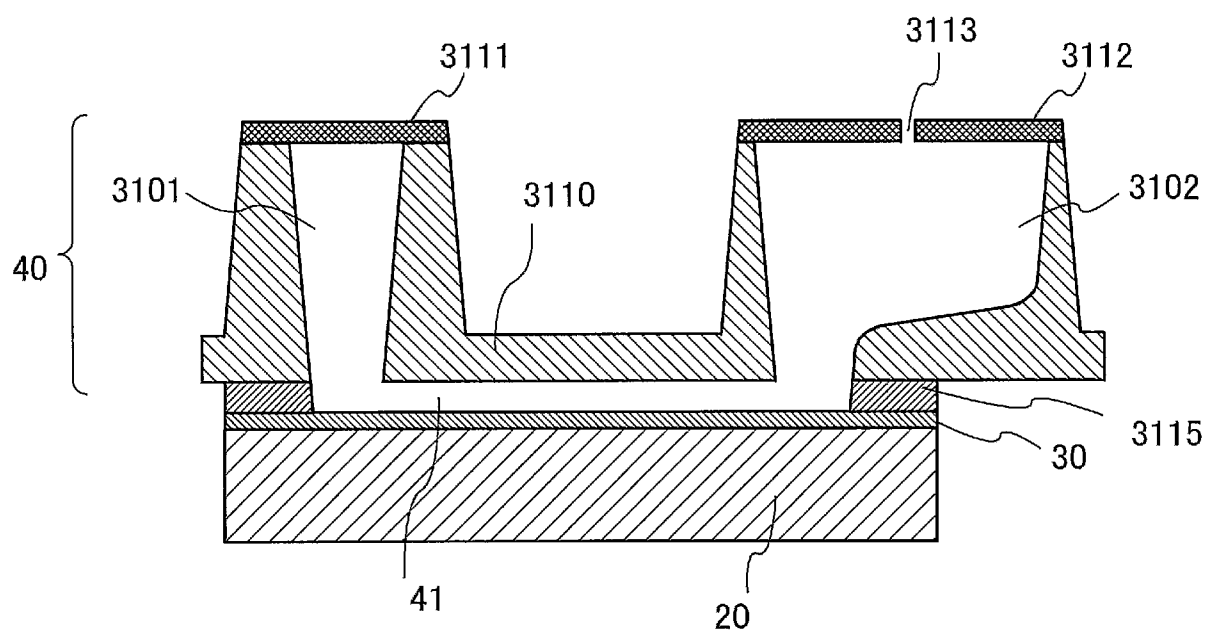
前記ピペットチップは、前記液体注入部内が密閉状態となり、かつ前記ピペットチップの先端が前記液体注入部内に注入する前記液体の液面より下方となるように挿入され、

前記送液ポンプ駆動機構は、前記ピペットチップから前記液体注入部に液体を注入後、前記液体注入部内の密閉状態を維持した状態で、前記ピペットチップを軸方向に上昇させることで、前記液体注入部内の前記液体の液面の高さを上昇させ、前記ピペットチップにより前記液体注入部内の液体を吸引する、もしくは前記ピペットチップにより前記液体注入部に液体を注入及び前記液体注入部内の液体を吸引する、
検出装置。

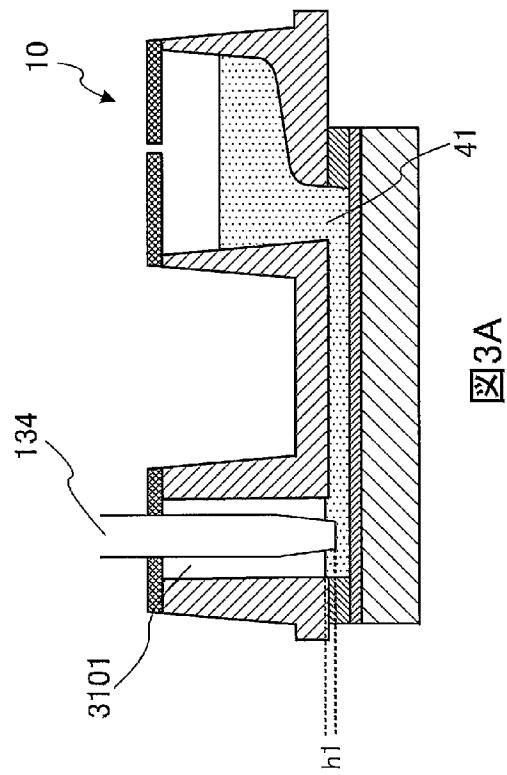
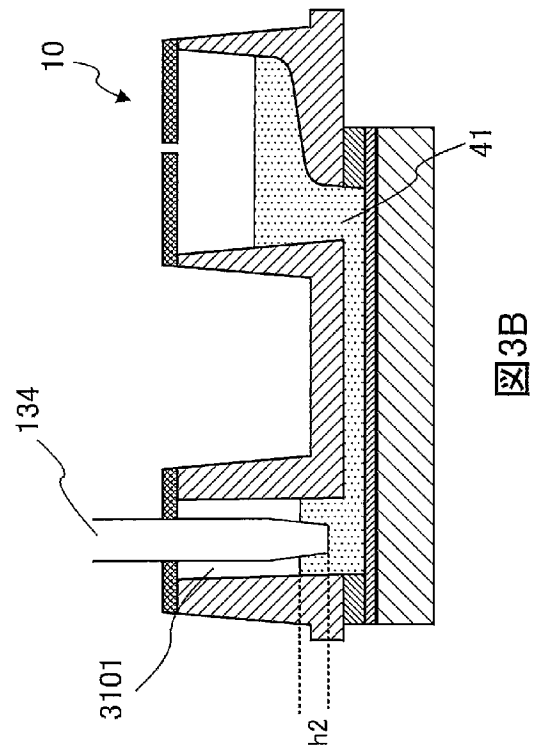
[図1]



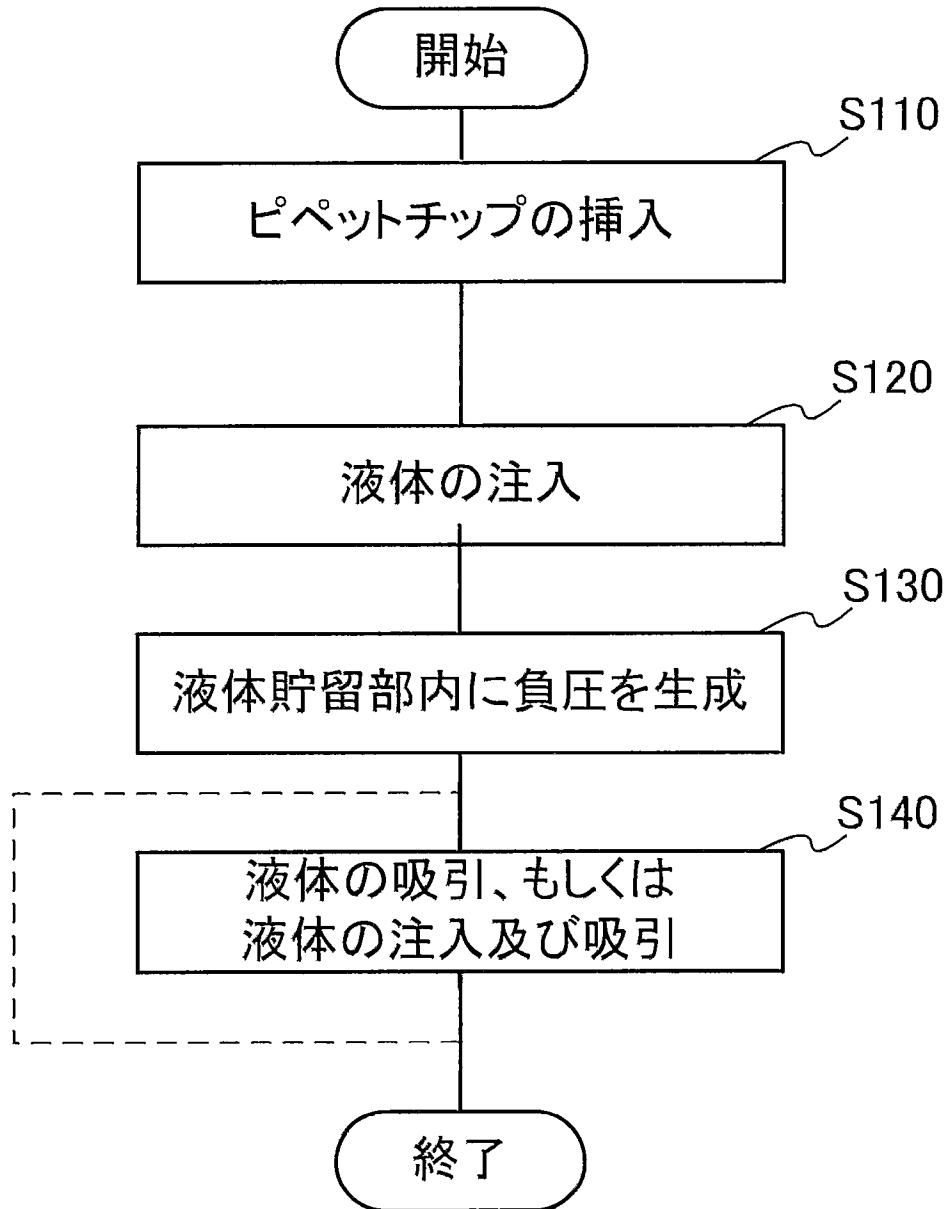
[図2]



[図3]



[図4]



[図5]

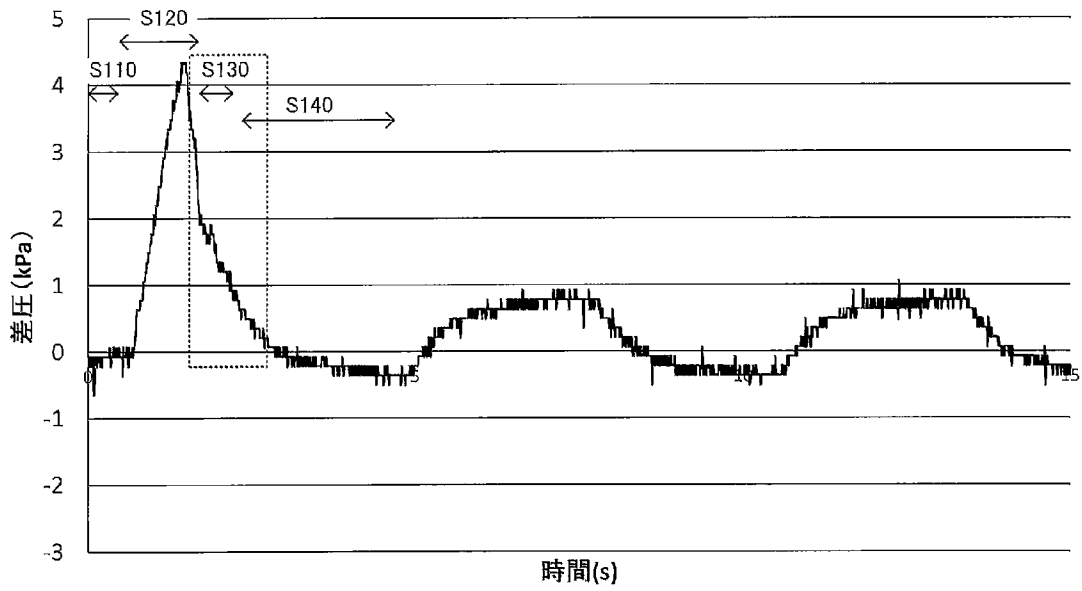


図5A

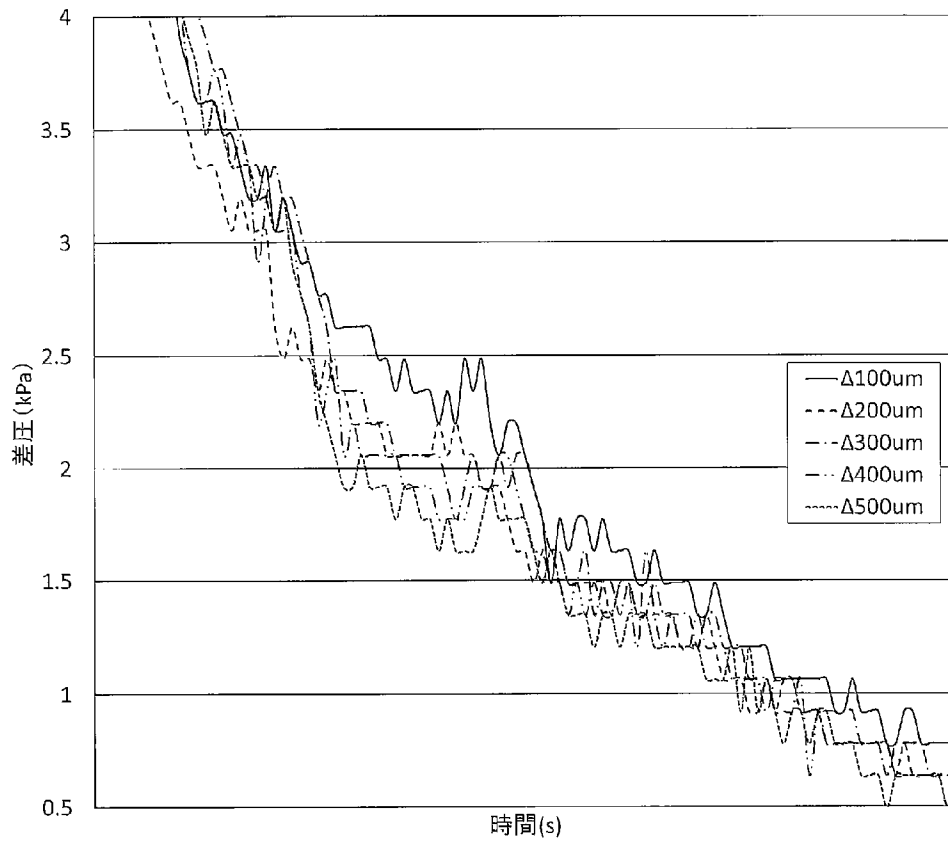
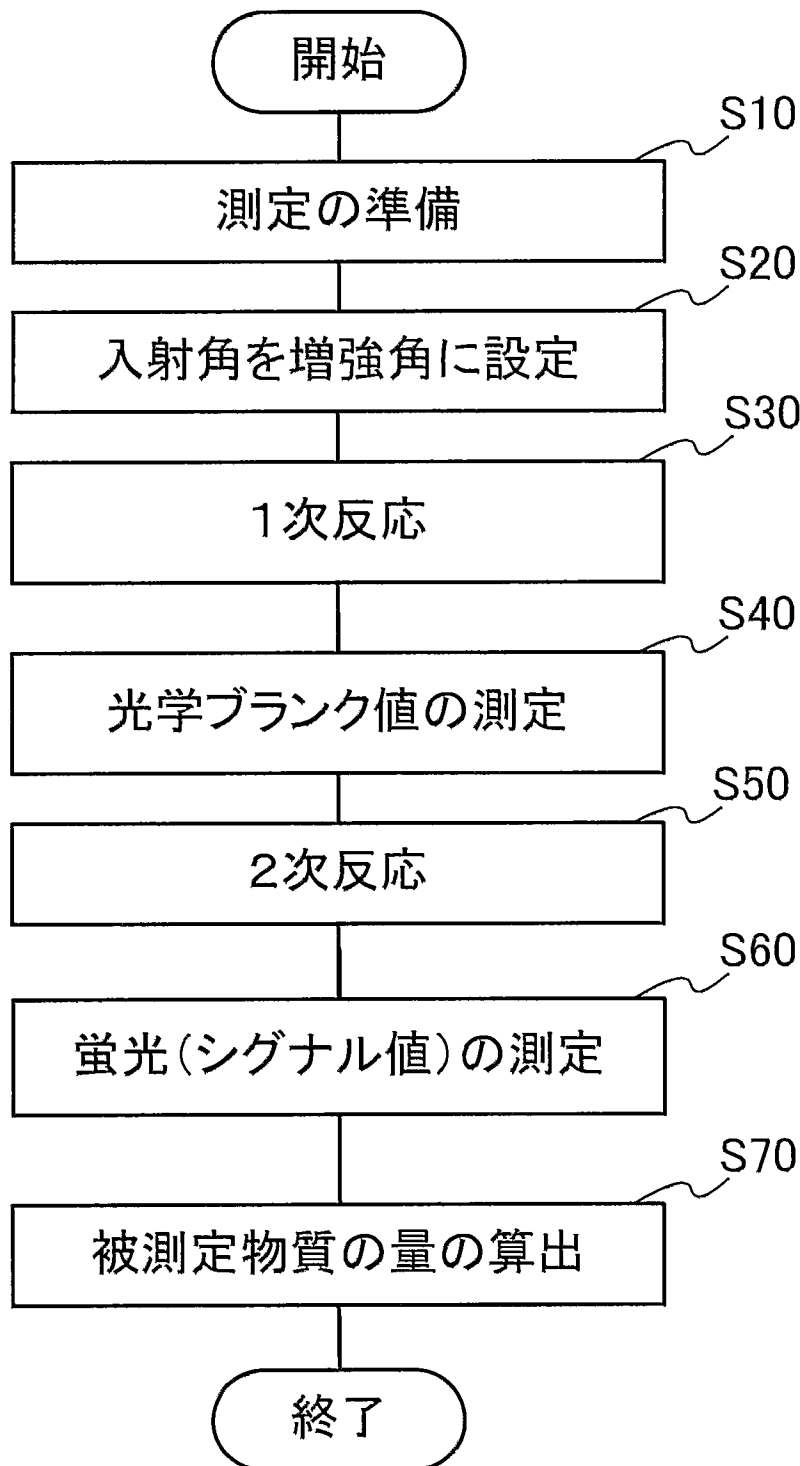
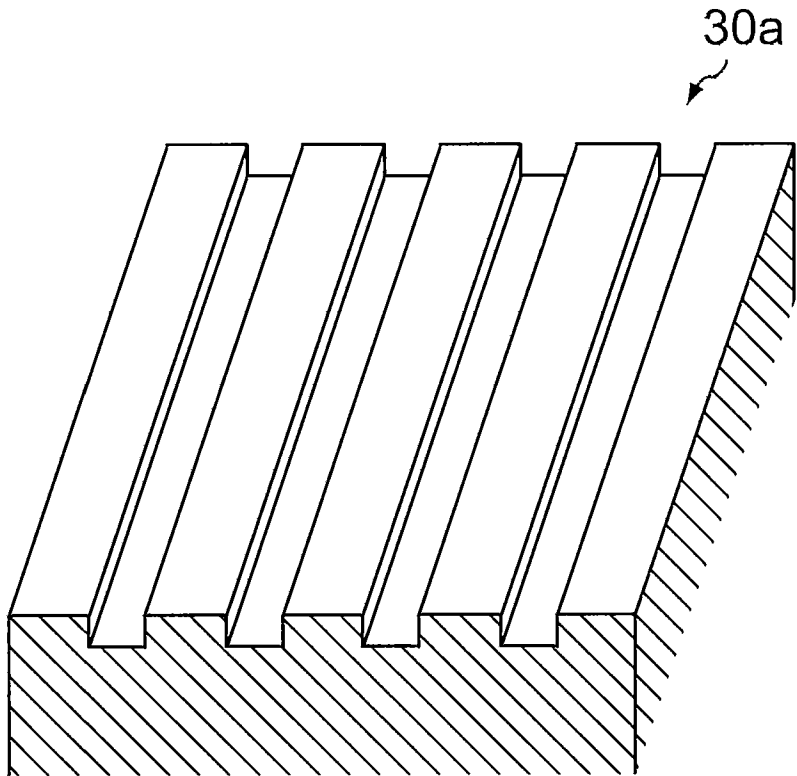


図5B

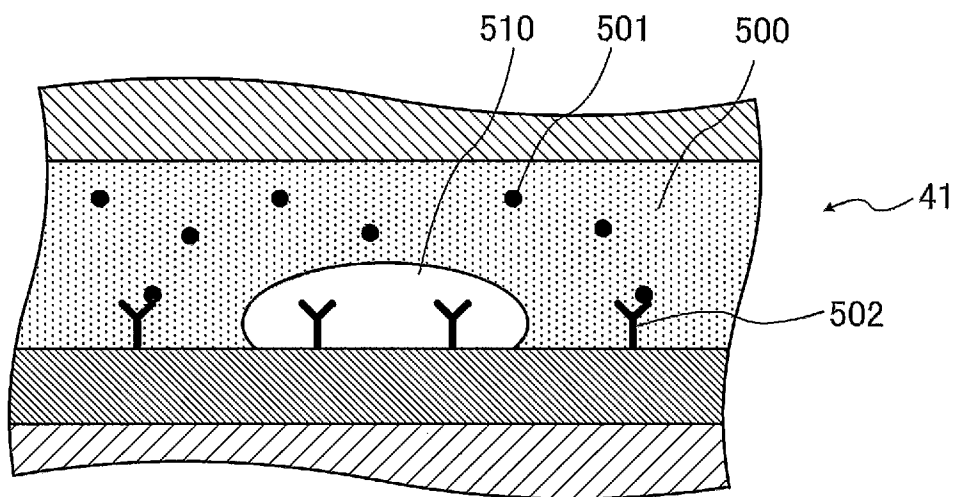
[図6]



[図7]



[図8]



[図9]

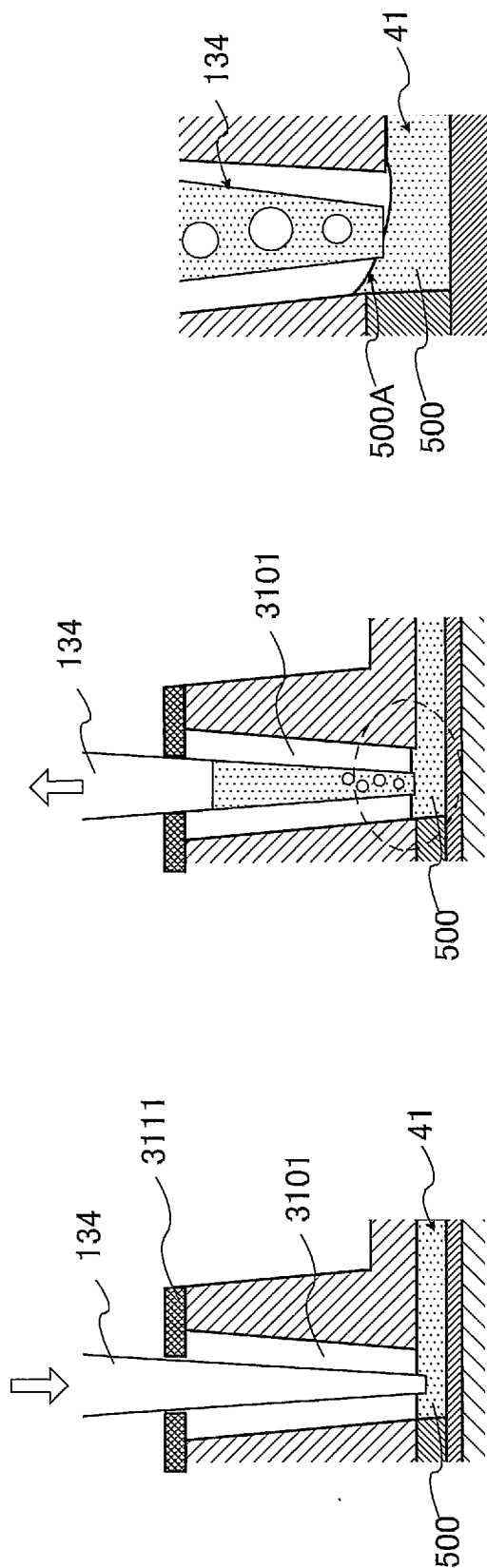


図9A

図9B

図9C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/053077

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N35/10(2006.01)i, G01N1/00(2006.01)i, G01N21/05(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)n

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)
G01N35/10, G01N1/00, G01N21/05, G01N21/64

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	1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2016	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2016

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2012-159358 A (Konica Minolta Holdings, Inc.), 23 August 2012 (23.08.2012), paragraphs [0040], [0078] to [0092]; fig. 7, 8 (Family: none)	1-5
A	WO 2011/027851 A1 (Konica Minolta Holdings, Inc.), 10 March 2011 (10.03.2011), paragraphs [0044] to [0075]; fig. 2 to 6 & US 2012/0156800 A1 paragraphs [0044] to [0104]; fig. 2a to 6d & EP 2477033 A1	1-5

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 08 April 2016 (08.04.16)	Date of mailing of the international search report 19 April 2016 (19.04.16)
---	--

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/053077

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 97/44671 A1 (Precision System Science Co., Ltd.), 27 November 1997 (27.11.1997), claim 10 & EP 965842 A1 claim 10 & NO 990558 A & AU 5703096 A & CA 2255658 A	1-5
A	WO 2015/064441 A1 (Konica Minolta, Inc.), 07 May 2015 (07.05.2015), paragraphs [0070] to [0096]; fig. 5 to 7 (Family: none)	1-5
A	WO 2012/172992 A1 (Konica Minolta Holdings, Inc.), 20 December 2012 (20.12.2012), paragraphs [0062] to [0078]; fig. 4 to 9 & US 2014/0118747 A1 paragraphs [0132] to [0158]; fig. 4 to 9 & EP 2722663 A1	1-5

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N35/10(2006.01)i, G01N1/00(2006.01)i, G01N21/05(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)n

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. G01N35/10, G01N1/00, G01N21/05, G01N21/64

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	1971-2016年
日本国実用新案登録公報	1996-2016年
日本国登録実用新案公報	1994-2016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)

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 2012-159358 A (コニカミノルタホールディングス株式会社) 2012.08.23, [0040]、[0078] - [0092]、[図7]、[図8] (ファミリーなし)	1-5
A	WO 2011/027851 A1 (コニカミノルタホールディングス株式会社) 2011.03.10, [0044] - [0075]、[図2] - [図6] & US 2012/0156800 A1([0044]-[0104], Fig. 2a- Fig. 6d) & EP 2477033 A1	1-5

☑ 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	の日の後に公表された文献
「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	「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
「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	「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
「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)	「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
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 08.04.2016	国際調査報告の発送日 19.04.2016
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) 土岐 和雅 電話番号 03-3581-1101 内線 3252
	2 J 4 4 5 9

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	WO 97/44671 A1 (プレシジョン・システム・サイエンス株式会社) 1997. 11. 27, 請求の範囲 10 & EP 965842 A1 (Claim. 10) & NO 990558 A & AU 5703096 A & CA 2255658 A	1 - 5
A	WO 2015/064441 A1 (コニカミノルタ株式会社) 2015. 05. 07, [00 70] - [0096], [図5] - [図7] (ファミリーなし)	1 - 5
A	WO 2012/172992 A1 (コニカミノルタホールディングス株式会社) 2012. 12. 20, [0062] - [0078], [図4] - [図9] & US 2014/0118747 A1 ([0132]-[0158], Fig. 4-9) & EP 2722663 A1	1 - 5