

明 細 書

発明の名称： 検査デバイス、検査装置および検査方法

技術分野

[0001] 本発明は、被検物質である抗原、抗体もしくはデオキシリボ核酸などを検出するための検査デバイス、その検査デバイスを備えた検査装置および検査方法に関する。

背景技術

[0002] 生化学的な反応、例えば、酵素反応、核酸ハイブリダイゼーション、抗原－抗体反応などの特異的結合反応を検査する方法の一つとして、被検物質と捕捉物質との間の結合現象を光学的に検出する方法が知られている。この方法は、所定位置に固定されている捕捉物質に被検物質を結合させ、励起光を受けて蛍光を発する標識、あるいは、基質の反応を触媒して発色、蛍光もしくは化学発光を生じさせる標識などをその被検物質に付与し、かかる標識に起因して生じる光を検出するものである。より具体的には、被検物質に特異的に結合する抗体などの結合物質に蛍光標識を付与し、蛍光標識から生じる蛍光を検出する方法、被検物質に特異的に結合する抗体などの結合物質に酵素を標識し、この酵素を触媒として反応する発色基質、蛍光基質、あるいは化学発光基質から生じる発色や蛍光、化学発光を検出する方法等が知られており、これらにより、被検物質の特定が可能となる。

[0003] このような検査に用いられるバイオチップとしては、二次元基板上に生体関連分子が規則的に配列された多項目同時検出のためのチップが従来用いられている。近年では、支持体に多数の貫通孔（細孔）が整列配置されてなる多孔性基板からなるデバイスの検討が進められている。細孔内に捕捉物質を固定化し、被検物質を含有する検体液を多孔性基板の裏面側から表面へと貫通孔を介してポンプで汲み上げ、循環させることにより、検体液が捕捉物質に効率的に接触されて、被検物質を捕捉物質に結合させることができ、測定時間の大幅な短縮化を図ることができる。

[0004] 多孔性を有する基板としては、多孔性のシリコン（Si）基材が知られているが、シリコンは反射率が低く、細孔内で生じた光は細孔内で多重反射するうちに、その信号強度が大幅に減衰してしまうため、細孔内で生じた光信号の光取り出し効率が非常に低いという問題がある。

[0005] 特許文献1では、上記問題を解決する手段として、多孔性シリコンを熱酸化処理して局部的に透明な酸化シリコン（SiO₂）化し、その酸化された領域をシリコンからなる枠（壁）によって取り囲むことにより、光の出射開口を実質的に広げて光取り出し効率を向上させた構成が提案されている。

[0006] 特許文献2では、多孔性基材の細孔の径が表裏の開口部分の径において内部よりも大きくすることにより、取り出し光量を増加させている。

[0007] 特許文献3では、基材の光取り出し面に向かって徐々に径が広がるテーパ状の細孔を備えたデバイスが提案されている。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特許第4 1 2 5 2 4 4 号公報

特許文献2：特表2 0 0 5 - 5 2 7 8 1 2 号公報

特許文献3：特開2 0 0 4 - 1 9 1 1 2 7 号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 特許文献1では、光開口率の増加に伴う光取り出し効率の向上は可能であるが、枠壁として用いられているシリコンの反射率が低いため、シリコンの壁に入射する光は減衰されてしまい枠壁に入射する光の取り出し効率は向上しない。特に、チップの高性能化を図るためには、チップを厚くして、検出領域を広げたり、細孔を高密度化したりする必要性が生じると考えられ、細孔の長さ（基板厚み）と開口径とのアスペクト比を大きくする必要性が生じる。細孔のアスペクト比が大きくなると、シリコン枠で囲まれた領域のアスペクト比も追従して大きくなるために、シリコン枠で囲まれた領域の光出射開

口が実質的に狭くなり、シリコン枠での多重反射による光信号減衰の影響が大きくなる。

[0010] 特許文献2の構成によれば、多孔性シリコンの一方の面および他方の面の両面における開口径が内部の開口径よりも大きいことから、一方の面あるいは他方の面側に向かって進行する光に対する光開口率が向上するため光取り出し効率が上昇する。しかし、一方の面にあるいは、他方の面側に進む光を反対の面側に向けるものではないために、一方の面側にのみ、もしくは他方の面側にのみ光検出器を配置して光検出を実施する測定装置に用いられる場合には、十分な取り出し効率の向上を達成することはできない。

[0011] 特許文献3では、基材の光取り出し面に向かって徐々に径が広がるテーパ状の細孔により、細孔内で生じ、光取り出し面とは反対の面に向かって進行した光の一部を内壁面で反射させて光取り出し面側へと向かわせることができるが、既述のような、チップの高性能化の要請により、細孔の長さの細孔の直径に対する比で表されるアスペクト比が大きくなると、十分なテーパ角度をつけることができないため、光取り出し効率を十分に向上させることはできない。

[0012] 本発明は、上記事情に鑑み、従来のデバイスよりも光取り出し効率を向上させることができる検査デバイスを提供することを目的とする。また、本発明は高い光取り出し効率を実現した検査デバイスを備えた検査装置および検査方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明の検査デバイスは、板状基材の一方の面から他方の面に貫通する複数の細孔を備えた検査デバイスであって、

細孔が、同一開口径で延びる柱状中空部と、柱状中空部の他方の面側に形成された、柱状中空部を構成する内壁面に連続し、柱状中空部における開口径よりもその細孔の開口径を小さくする反射面を有し、

反射面と他方の面とのなす角度が 0° 以上 45° 以下である検査デバイスである。

- [0014] 本発明の細孔の柱状中空部の内壁面に特定の物質と特異的に結合する捕捉物質が固定されていることが好ましい。
- [0015] 上記捕捉物質としては、抗原、抗体またはデオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid: DNA) が好ましい。
- [0016] 本発明の検査デバイスは、反射面が金属面であることが好ましい。
- [0017] 本発明の検査デバイスは、細孔が、一方の面から柱状中空部に向かって細孔の開口径を徐々に小さくするテーパ部を有することが好ましい。
- [0018] 本発明の検査デバイスにおいて、板状基材は、Si、SiO₂、Al、Al₂O₃および樹脂材料のうちの1つまたは2つ以上の材料からなるものとすることができる。
- [0019] 本発明の検査デバイスにおいて、反射面を構成する材料は、柱状中空部を構成する材料と異なるものであってもよい。
- [0020] 本発明の検査デバイスは、細孔の上記柱状中空部における開口径は1 μm ~ 100 μmであることが好ましい。ここで、開口径は一方の面に平行な断面における開口領域の円相当直径で定義する。円相当直径とはその開口領域の面積と同一の面積の円の直径をいう。
- [0021] 本発明の検査デバイスは、板状基材の厚さが100 μm ~ 2000 μmであることが好ましい。
- [0022] 本発明の検査装置は、本発明の検査デバイスと、
検査デバイスの細孔中に検査用溶液を供給する溶液供給部と、
検査デバイスの一方の面側に配置され、検査デバイスから出射される光を検出する光検出器とを備えた検査装置である。
- [0023] 本発明の検査方法は、本発明の検査デバイスの上記少なくとも一部の細孔の柱状中空部の内壁面に特定の物質と特異的に結合する捕捉物質を固定し、
上記特定の物質を含有する検体液を供給して、特定の物質を捕捉物質に結合させ、
特定の物質と特異的に結合する標識物質を特定の物質に結合させ、
細孔に検査用溶液を供給して細孔に検査用溶液を留めた状態で、検査デバ

イスの上記一方の面から出射される光を検出する検査方法である。

[0024] 本発明の検査方法においては、上記標識として酵素標識を用い、上記検査用溶液として酵素標識により触媒されて反応する基質を含む反応液を用い、上記検査デバイスから出射される光として、反応液中の基質が酵素標識により触媒されて生じる光を検出してもよい。

なお、基質としては、発色基質、蛍光基質および化学発光基質などが挙げられ、これらの基質は酵素標識の種類に応じて適宜選択される。また、この基質に応じて、検査デバイスから出射される光は異なり、検出される光は、吸光（呈色）、蛍光または化学発光である。

[0025] 本発明の検査方法においては、標識物質として蛍光標識を含む物質を用い、蛍光標識を励起させる励起光を検査デバイスに照射し、上記検査デバイスから出射される光として、励起光の照射により標識物質から生じる蛍光を検出してもよい。

発明の効果

[0026] 本発明の検査デバイスは、板状基材の一方の面から他方の面に貫通する複数の細孔を備えた検査デバイスであって、細孔が、同一開口径で延びる柱状中空部と、柱状中空部の他方の面側に形成された、柱状中空部の内壁面に連続し、柱状中空部の細孔よりも開口径を小さくする反射面を有し、その反射面と他方の面とのなす角度が 0° 以上 45° 以下であるので、細孔内において生じる光の検査デバイスの一方の面側への取り出し効率を向上させることができる。

図面の簡単な説明

[0027] [図1]本発明の実施形態にかかる検査デバイスの斜視図である。

[図2]図1に示す検査デバイスの平面図である。

[図3]図1に示す検査デバイスの断面図である。

[図4]図1に示す検査デバイスの下面図である。

[図5]本発明の検査デバイスの効果を説明するための模式図である。

[図6]設計変更例1の検査デバイスの一部を示す断面図である。

[図7]設計変更例2の検査デバイスの一部を示す断面図である。

[図8]設計変更例3の検査デバイスの一部を示す断面図である。

[図9]設計変更例4の検査デバイスの一部を示す断面図である。

[図10]異なる材料からなる部分を有する板状基材の例を示す断面図である。

[図11]本発明の検査デバイスを備えた一実施形態の検査装置の概略構成を示す図である。

[図12]検査装置における溶液供給部を説明するための模式図である。

[図13]本発明の検査デバイスを用いた検査工程を示す模式図である。

発明を実施するための形態

[0028] 以下、図面を参照して本発明の実施形態を詳細に説明する。なお、本明細書において「～」とは、その前後に記載される数値を下限値および上限値として含む意味で使用される。

[0029] 図1は本発明の第1の実施形態にかかる検査デバイスの斜視図であり、図2は図1の検査デバイスの平面図、図3は図2の検査デバイスのIII-III線断面図、図4は図1の検査デバイスの下面図である。

[0030] 本実施形態の検査デバイス1は、一方の面11から他方の面12に貫通する複数の細孔14を備えた板状基材10を備え、細孔14が、同一開口径で延びる柱状中空部40と、柱状中空部40の他方の面12側に形成された、柱状中空部40を構成する内壁面41に連続し、柱状中空部40よりも細孔14の開口径 ϕ を小さくする反射面42とを有してなる。なお、この反射面42は、他方の面12とのなす角度 θ が 0° 以上 45° 以下である。細孔14の内壁面14aは、柱状中空部40を構成する内壁面41と反射面42とを少なくとも含む。そして、細孔14の内壁面14aには特定の物質と特異的に結合する捕捉物質30が固定されている。なお、捕捉物質30は内壁面14aのうち、少なくとも柱状中空部を構成する内壁面41に備えられていればよい。

[0031] 図2に示す平面図は、検査デバイス1を一方の面11から見た図であり、図4に示す下面図は、検査デバイス1を他方の面12から見た図である。な

お、図1に示す通り、検査デバイス1の外形は板状基材10の外形により構成されるものであるため、以下において、板状基材10の一方の面11および他方の面12を、検査デバイス1の一方の面および他方の面と称する場合がある。

[0032] 板状基材10は、Si（シリコン）、SiO₂（シリコン酸化物）、Al（アルミニウム）、Al₂O₃（アルミナ）および樹脂材料のいずれか1つもしくは2つ以上の材料から構成されていることが好ましい。板状基材10は、SiあるいはAlなどからなる不透明なものであってもよいし、SiO₂あるいはAl₂O₃などからなる透明なものであってもよい。板状基材10は、いずれか単体の材料で構成されていてもよいし、例えば、Si基材を一部酸化することによりSi部分とSiO₂部分とを含むものであってもよいし、Al基材を一部酸化して、Al部分とAl₂O₃部分とを含むものであってもよい。また、板状基材10は、Si、SiO₂、AlもしくはAl₂O₃の本体部材と樹脂材料からなる表面部材とからなるものであってもよい。

[0033] 板状基材10の厚さt（図3参照）には、特に制限はないが、100μm～2000μm程度が好ましい。本実施形態の検査デバイス1においては、柱状中空部40の長さ（厚み）t₁と反射面42がテーパ状に配置された部分の細孔長さ方向における長さt₂（以下において、「反射面42が占める厚みt₂」という。）との合計が板状基材10の厚みtである。

[0034] 板状基材10に設けられる細孔14は、本実施形態に示すように、整列配置されていることが好ましいが、ランダムに配置されていてもよい。本実施形態においては、視認容易のために3行×3列の9本の細孔を有するものとしたが、例えば、10行×10列の100本の細孔を含むなど、検査デバイス1中に備えられる細孔の数に制限はない。また、例えば、10行×10列の100本の細孔領域を1つ検査領域とし、複数の検査領域を備えた検査デバイスを備えていてもよい。

[0035] 本実施形態における細孔14の一方の面11に平行な断面形状（開口形状）は、正形状であるが、開口形状は、正方形、長方形などの矩形に限らず

、円形、楕円形、三角形あるいは五角形以上の多角形であってもよい。なお、作製上の都合により多角形状の角部には丸みがつく場合がある。細孔 14 の開口径 ϕ は、細孔 14 の一方の面 11 に平行な断面の形状（開口領域）における円相当直径である。

[0036] 図 3 に示すように、細孔 14 の開口径 ϕ は、柱状中空部 40 においては同一であり、反射面 42 により他方の面 12 に近づくにつれ小さくなるように構成されている。

なお、細孔 14 の柱状中空部 40 における開口径（上述の断面の開口領域における円相当直径）が $1\ \mu\text{m} \sim 100\ \mu\text{m}$ 程度であることが好ましい。より好ましくは $3\ \mu\text{m} \sim 50\ \mu\text{m}$ であり、特に好ましくは $5\ \mu\text{m} \sim 30\ \mu\text{m}$ である。

[0037] 柱状中空部 40 における開口径に対する板状基材の厚みで表されるアスペクト比（ t/ϕ ）は 5 以上、100 以下であることが好ましい。アスペクト比がこの範囲にあるとき、上記の反射面 42 を備えることによる効果が特に顕著である。なお、柱状中空部 40 における開口径に対する一方の面 11 側から反射面 42 を含む部分までの厚み（本実施形態においては厚み t と同一）の、開口径に対するアスペクト比が、5 以上、100 以下であることが好ましい。

[0038] 反射面 42 は後述する標識に起因して生じる光に対して反射性を有するものであればよい。ここで、反射性を有するとは、反射すべき光に対する反射率が 50% 以上であることをいう。例えば、標識に起因して生じる光の波長が 550 nm である場合には、少なくとも波長 550 nm に対する反射率が 50% 以上であればよい。なお、可視光（波長 400 nm $\sim$ 700 nm）の全域に対して反射率が 50% 以上であれば、標識の種類に関わらず適用可能となるため、好ましい。

[0039] 反射面 42 は例えば、鋼、ステンレス、アルミニウム、金、白金、銀、銅、チタン、ニッケル、コバルト、錫、タングステン、モリブデンあるいはニオブなどの金属から構成された金属面とすることができる。あるいは白色樹

脂などの反射率の高い樹脂、例えば、顔料もしくは TiO_2 、 Al_2O_3 等のフィラーから構成されていてもよい。

[0040] 反射面42は、他方の面12となす角度 θ が $0^\circ \sim 45^\circ$ である。 θ が 0° のとき、反射面42と他方の面12とは平行となる。本実施形態において、反射面42は、細孔の開口径を柱状中空部40から他方の面12に向けて徐々に小さくするテーパ部として備えられている。

[0041] 上記実施形態の検査デバイス1の上記反射面42を備えたことによる効果について図5を参照して説明する。

図5は検査デバイス1の断面の一部を示した模式図である。本検査デバイス1は、細孔14の内壁面14aに固定された捕捉物質（図5中では省略している。）に被検物質を結合させ、更に、酵素で標識された2次抗体を被検物質に結合させ、この酵素（標識F）を触媒とした化学発光である光信号を検出することにより被検物質の有無および被検物質の量、またはそのいずれかを検出する検査方法に用いられる。

[0042] 1つの細孔14内で発生した光はその細孔14の内壁面14aで反射を繰り返して表面から出射される。このとき、反射面42を備えていることにより、標識Fによって生じ、他方の面12側に放射された光のうち、直接もしくは内壁面14aで反射されて反射面42に入射した光が、反射面42で反射され、一方の面11側へと導光される。その結果として、細孔14内で発生した光の一方の面11から出射する光量を効果的に増加させることができる。

[0043] 他方の面12となす角度 θ が 45° 以下である反射面42が柱状中空部40を構成する内壁面41に連続して備えられていることにより、細孔14の内壁面14a、特に、この柱状中空部40の内壁面41で発生した光のうち反射面42に入射した光を効率よく反射することができる。上記角度 θ が 45° 以下であれば、反射面42に入射する光のうち一方の面側に向けて反射させる光の割合を他方の面側に向けて反射される光の割合以上とすることができるので、一方の面11側における光取り出し光量を向上させる効果

が高い。角度 θ が 0° に近づくほど、反射面42に入射した光のうち一方の面側に向けて反射させる光の割合を大きくすることができる。但し、角度 θ が小さくなると、相対的に、他方の面12における開口径が小さくなり、他方の面12から検査用溶液を細孔内へ吸引させにくくなる場合があるため、角度 θ は $0^\circ \sim 45^\circ$ の範囲で適宜定めればよい。

[0044] 以上の通り、本検査デバイス1では、細孔14から生じた光を他方の面12側に備えられた反射面42で反射することにより、一方の面11側からの光取り出し光量を大幅に増加させることができる。

[0045] 本検査デバイス1において検査対象とされる被検物質（標的分子）は、主として、生体由来分子であり、抗原および抗体などのタンパク質、糖類、ペプチド、DNA、リボ核酸（ribonucleic acid: RNA）、ペプチド核酸（peptide nucleic acid: PNA）などである。そして、細孔14の内壁面14aに固定されている、特定の物質と特異的に結合する捕捉物質30としては、特定の物質であるこれらの被検物質と特異的に結合する物質である。特に、本検査デバイス1は、抗原の一種であるアレルゲンを捕捉物質として備えたアレルギー検査に好適である。

[0046] なお、複数の細孔14間では、異なる捕捉物質を固定しておくこともできる。これにより、1つの検査デバイス1で、複数の被検物質についての検査を同時に行うことが可能となる。なお、複数の細孔14間では、同一種の捕捉物質を含む細孔が2以上あってもよい。互いに異なる捕捉物質が固定されている細孔14が交互に配置されて周期的に同一種の捕捉物質が固定された細孔が配置された検査デバイスを用いれば、ばらつきを抑制した検査結果を得ることが可能となる。

[0047] 例えば、1つもしくは複数の細孔14に捕捉物質である同一種のアレルゲンを固定することとして、互いに異なる種類のアレルゲンが固定された細孔を備えることにより、1つの検査デバイスに複数種のアレルゲンに対する反応を同時に検査することが可能となる。

[0048] また、複数の細孔14を含む検査領域を複数備えたデバイスにおいては、

1つの検査領域中の細孔には同一種のアレルゲンを固定し、1つの検査領域中の細孔には同一種の捕捉物質を結合（固定）し、複数の検査領域間では、異なる捕捉物質を固定させるようにしてもよい。1つの検査領域内に複数の細孔を備えているので、一種の被検物質に対する感度を向上させつつ、複数の被検物質についての検査を同時に行うことが可能となる。なお、複数の検査領域間では、同一種の捕捉物質を含む領域が2以上あってもよい。互いに異なる捕捉物質が固定されている検査領域が交互に配置されて周期的に同一種の捕捉物質が固定された検査領域が配置された検査デバイスを用いれば、ばらつきを抑制した検査結果を得ることが可能となる。

[0049] 上記実施形態の検査デバイスの設計変更例を図6～図10に示す。図6～図10には、設計変更例の検査デバイスの一部の断面図を示す。実際の検査デバイスにおいては、各図に示す細孔14が二次元状に複数配列されてなることが好ましい。

[0050] 図6に示す設計変更例1の検査デバイスは、反射面43が板状基材10の他方の面12と平行である、すなわち他方の面とのなす角度が 0° である。細孔14は柱状中空部40の内壁面41、反射面43および、柱状中空部40よりも開口径が小さい小径中空部を構成する内壁面48からなる内壁面14aを有する。本設計変更例1においては、柱状中空部40の厚み t_1 と反射面43により開口径が狭められた小径中空部の厚み t_3 との合計が板状基材10の厚み t である。

反射面43が他方の面12と平行であるとき、柱状中空部40で生じて反射面43に入射した光を全て一方の面11側に向けて反射させることができ、好ましい。

[0051] 図7に示す設計変更例2の検査デバイスは、反射面44が曲面である。本例において細孔14は、柱状中空部40の内壁面41および曲面からなる反射面44からなる内壁面14aを有する。本設計変更例2においては、柱状中空部40の厚み t_1 と曲面の反射面44が形成された部分の細孔長さ方向における厚み t_4 との合計が板状基材10の厚み t である。反射面44が曲面で

ある場合には、反射面 4 4 の最も他方の面 1 2 側の位置における接線と、他方の面 1 2 とのなす角度を θ とし、この角度 θ が $0^\circ \sim 45^\circ$ であればよい。この場合にも、上記実施形態と同様の効果を得ることができる。

[0052] 図 8 に示す設計変更例 3 の検査デバイスは、上述の実施形態と同一の反射面 4 2 を備えている。さらに、板状基材 1 0 の一方の面 1 1 側の細孔開口部に一方の柱状中空部 4 0 から徐々に開口径が広がるテーパ面 4 5 を備えている。本例において細孔 1 4 は、柱状中空部 4 0 の内壁面 4 1、反射面 4 2 およびテーパ面 4 5 からなる内壁面 1 4 a を有する。本設計変更例 3 においては、柱状中空部 4 0 の厚み t_1 、反射面 4 2 が占める厚み t_2 、およびテーパ面 4 5 が形成された部分の細孔長さ方向における厚み t_5 の合計が板状基材 1 0 の厚み t である。本例のように一方の面 1 1 の開口部の開口径を大きくすることにより、細孔 1 4 中で生じた光の一方の面 1 1 側における光取り出し光量を増加させることが可能であり、好ましい。

[0053] 図 9 に示す設計変更例 4 の検査デバイスは、上述の実施形態と同様に、柱状中空部 4 0 の内壁面 4 1 に連続して他方の面 1 2 側に反射面 4 2 を備えており、その反射面 4 2 のさらに他方の面 1 2 側に再び開口径を大きくするテーパ面 4 9 を備えている。本例において細孔 1 4 は、柱状中空部 4 0 の内壁面 4 1、反射面 4 2 およびテーパ面 4 9 からなる内壁面 1 4 a を有する。本設計変更例 4 においては、柱状中空部 4 0 の厚み t_1 、反射面 4 2 が占める厚み t_2 、およびテーパ面 4 9 が占める厚み t_6 の合計が板状基材 1 0 の厚み t である。このように、反射面 4 2 よりも他方の面 1 2 側にさらに開口径の大きくなる部分を備えることにより、後述の検査方法において、この他方の面 1 2 側からの細孔 1 4 内への検査用溶液の吸い上げやすい構造となる。

[0054] なお、図 6 のような反射面 4 3 の他方の面 1 2 側にさらに小径中空部を備える構成の場合には、他方の面 1 2 側の中空部の厚み t_3 を除く、柱状中空部 4 0 の厚み t_1 の柱状中空部の開口径に対する比が $5 \sim 100$ であることが望ましい。同様に、図 9 のような反射面 4 2 の他方の面 1 2 側にテーパ面 4 9 を備える構成の場合にも、テーパ面 4 9 が占める厚み t_6 を除く、柱状中空部

40の厚み t_1 と反射面42が占める厚み t_2 の合計 $t_1 + t_2$ の柱状中空部の開口径に対する比が5～100であることが望ましい。

[0055] 上記各例において、板状基材10は単一の材料により構成されていてもよいし、部分によって異なる複数の材料により構成されていてもよい。図10に異なる材料で構成された部分を有する検査デバイスの構成例を示す。図10は、検査デバイスの一部の断面図である。

[0056] 図10に示す検査デバイスは、図8に示した設計変更例3の検査デバイスと同様の形状の細孔14を有する。ここで、板状基材10は、柱状中空部40を構成する本体部材17と、本体部材17とは異なる材料からなる、テーパ面45および一方の面11を構成する第1の表面部材18aと、反射面42および他方の面12を構成する第2の表面部材18bとから構成される。

[0057] 本検査デバイスの作製方法について説明する。

まず、複数の柱状の細孔を有するSi、 SiO_2 、Alもしくは Al_2O_3 からなる板状の本体部材17を作製する。例えば、複数の柱状の細孔を有するSiからなる本体部材は、MEMS (Micro Electro Mechanical System) 技術において公知のマイクロポラスSiの製造プロセスを用いることができる。さらに、Siからなる本体部材に対して熱酸化処理を行うことにより、複数の柱状の細孔を有する SiO_2 からなる本体部材を得ることができる。複数の柱状の細孔を有するAlからなる板状の本体部材は、Alの板状基材にドリルなどの機械的な手法で細孔を形成して作製することもできるし、エッチング等により細孔を形成して作製することもできる。また、Alからなる本体部材に対して陽極酸化処理を施すことにより、複数の柱状の細孔を有する Al_2O_3 からなる本体部材を得ることができる。なお、本体部材17の作製方法は、これらに限らず、多孔性基板を形成する種々の公知の手法を用いることができる。

[0058] 上記で作製した板状の本体部材17の細孔の開口を有する一方の面において、板状基材10の一方の面11および、一方の面11における開口径を柱状中空部40よりも大きくするテーパ面45を構成する第1の表面部材18

aと、柱状中空部40の他方の面12側において開口径を小さくさせる反射面42および他方の面12を構成する第2の表面部材18bとは、例えば、3Dプリンタを用いて作製することができる。

[0059] 3Dプリンタとしては、粉末状の材料に高出力のレーザー光線をあて焼結させる造形方式（粉末焼結積層造形方式）のものが好ましく、特に、材料粉末とレーザーを同時に照射し任意の部分を溶融させ、積層させる造形方式のものであれば、下地の自由度が高くより好ましい。この手法を用いれば、鋼、ステンレス、アルミニウム、金、白金、銀、チタン、銅、ニッケル、コバルト、錫、タングステン、モリブデンあるいはニオブなど反射面を構成する金属材料により、所望の形状の第1および第2の表面部材18a、18bを容易に作製することができる。あるいは、液体状の光硬化性樹脂組成物を、紫外線レーザーで一層ずつ硬化させて積層していく光造形方式により、光硬化性樹脂からなる第1および第2の表面部材18a、18bを作製してもよい。この場合、光硬化性樹脂として、反射性を有する材料を選択すればよい。例えば、UV（Ultraviolet）硬化エポキシ樹脂、UV硬化アクリル樹脂、などがあげられる。

[0060] なお、以上のようにして作製された板状基材10の細孔14の内壁面14aに被検物質と特異的に結合する特異的結合物質である捕捉物質を結合させる（固定化する）ことにより、検査に供する検査デバイス1を作製することができる。

細孔14の内壁面14aへの捕捉物質の固定方法は公知の方法を特に制限なく適用することができる。例えば、既述の特許文献1等の開示されている方法を用いることができる。

[0061] 次に、本発明の検査デバイスを備えた検査装置および本発明の検査デバイスを用いた検査方法を説明する。

[0062] 図11は、本発明の一実施形態の検査装置50の構成を模式的に示す図である。本実施形態の検査装置50は、上記検査デバイス1と、この検査デバイス1の細孔14中に検査用溶液を供給する溶液供給部60と、検査デバイ

ス 1 の一方の面 1 1 側に配置された光検出器 7 0 とを備えている。光検出器 7 0 は、検査デバイス 1 から出射される光を検出するものである。

[0063] 図 1 2 は溶液供給部 6 0 の概略構成を示す図である。

溶液供給部 6 0 は、検査デバイス 1 の他方の面 1 2 側に設置される検査用溶液 6 1 を貯留する貯留部 6 2 と、貯留部 6 2 の上部に設置されて、貯留部 6 2 に貯留されている検査用溶液 6 1 を吸引するピペット部 6 4 と、このピペット部 6 4 上に設置される検査デバイス 1 の一方の面 1 1 側に配置される減加圧空間部 6 6 および減加圧空間部 6 6 の圧力を減圧もしくは加圧するためのポンプ 6 8 を備えている。

[0064] ピペット部 6 4 の先端が検査用溶液 6 1 中に浸漬された状態で、ポンプ 6 8 により減加圧空間部 6 6 を減圧することにより検査用溶液 6 1 がピペット部 6 4 を介して検査デバイス 1 の細孔 1 4 内に供給される。なお、ポンプ 6 8 による減加圧空間部 6 6 の減圧および加圧により、検査デバイス 1 の細孔 1 4 への検査用溶液 6 1 の供給および、細孔 1 4 からの検査用溶液 6 1 の排出を行うことができる。

[0065] ここで、検査用溶液 6 1 は、光検出時に細孔 1 4 中に供給される溶液であるが、溶液供給部 6 0 は、検査工程において細孔 1 4 中に供給すべき検体液、標識溶液、洗浄液等の供給にも用いられる。すなわち、溶液供給部 6 0 は検査の工程毎に必要な溶液を細孔 1 4 に供給するものである。

[0066] 以下、上記検査装置 5 0 を用いた本発明の検査方法について説明する。

本発明において検査デバイスから出射され、光検出器により検出される光は、例えば、被検物質に付与された標識が励起されて生じる蛍光、もしくは標識が反応液の触媒として作用することで生じる発光、蛍光、化学発光など、標識に起因する光信号である。なお、被検物質が自家蛍光を生じるものであれば、標識は不要であり、自家蛍光を検出すればよい。また、ここで光信号とは、蛍光、化学発光光のほか、吸光度（比色）を含むものとする。

[0067] 図 1 3 は検査工程を模式的に示す図である。

検査デバイス 1 の細孔 1 4 の内壁面 1 4 a にはアレルゲンなどの捕捉物質

30が固定されている（S1）。この検査デバイス1の細孔14に被検物質（例えば、上記アレルゲンと特異的に結合する特異的IgE抗体）を含む検体液を供給して、被検物質32を捕捉物質30に結合させる（S2）。検体液の供給には、上述の溶液供給部60を用いる。貯留部62に検体液を貯留させた状態で、ポンプを動作させてピペット部64による検体液の吸引および排出を繰り返すことにより、検体液を細孔14内の捕捉物質30に効率よく接触させることができる。

[0068] 次に、検体液を排出した後、被検物質32と特異的に結合する物質33（例えば、二次抗体）に標識Fが付与されてなる標識物質35を含む標識溶液を細孔14に供給して、被検物質32に標識物質35を結合させる（S3）。標識溶液の細孔14へ供給は上記検体液の供給と同様に溶液供給部60により行う。

[0069] なお、上記測定方法においては、被検物質32の捕捉物質30への結合の後に、標識物質35を被検物質32に結合させているが、検査装置50外において、あらかじめ検体液と標識溶液を混合して被検物質32と標識物質35を結合させ、その混合液を細孔14内に供給するようにしてもよい。この場合、混合液の細孔14への供給により、細孔14内に固定された捕捉物質30に、標識物質35が結合された被検物質32を結合させることができる。

[0070] そして、標識溶液もしくは混合液を排出した後、検体液の供給と同様の方法で、溶液供給部60を用いて細孔14に洗浄液を供給して、細孔14中に非特異吸着している被検物質32や標識物質35を除去する。

[0071] 最後に、洗浄液を排出して、細孔14内にバッファ溶液等の検査用溶液を充填させた状態で、標識Fを基質として作用する発光反応から生じる光を光検出器70により検出する（S4）。なお、光検出器70による検査デバイス1からの出射光の検出時、検査デバイス1が反射面42を備えたことにより、細孔14内において生じ、他方の面12側に放射された光を反射面42により一方の面11側へ反射させることができるので、一方の面11側にお

いて光取り出し効率よく光検出を行うことができる。

[0072] 標識Fが蛍光色素、量子ドットなどの蛍光標識である場合には、バッファ溶液を検査用溶液として細孔14内に供給し、細孔14内をバッファ溶液で満たした状態で、蛍光測定を行う。具体的には、蛍光標識を励起する波長の光を励起光として検査デバイスに照射し、その励起光により励起された標識からの蛍光を検出する。なお、蛍光標識の検出の際に用いられる光検出器70には、励起光照射部が備えられている。

[0073] 一方、標識Fがルミノールなどの化学発光基質を触媒する酵素標識である場合には、上記洗浄処理の後、酵素標識を触媒として化学反応が促進される化学発光基質を含む反応液を検査用溶液として細孔14中に供給する。そして、光検出器70では、細孔14にこの反応液を供給にすることにより、細孔14の捕捉物質30に捕捉された被検物質32に付与された酵素標識が反応液中の物質の化学反応を触媒して生じる発光を検出する。この場合、反応液により細孔14が満たされた状態で発光検出を行う。

[0074] 化学発光を生じる酵素標識としては、ルミノール、ロフィン、ルシゲニンおよびシュウ酸エステルなどの化学発光基質と反応する酵素などが挙げられる。HRP（西洋わさびペルオキシダーゼ）酵素が標識として用いられる場合には、HRPが触媒として機能するルミノール系の化学発光基質を含有する反応液（ルミノール反応液）を、ALP（アルカリホスファターゼ）酵素が用いられる場合にはジオキセタン系化学発光基質を含有する反応液を用いることが好ましい。

[0075] ルミノール反応液には、少なくともルミノール基質と過酸化水素水が含まれる。酵素標識は、過酸化水素水存在下において、ルミノールの酸化を触媒するものである。反応液中には、化学発光を増感する増感剤を含むことが好ましい。

[0076] なお、酵素標識を用いた光検出においては、上記の化学発光基質のみならず、発光基質あるいは蛍光基質を含む反応液を用い、呈色（吸光）反応や、蛍光を検出するものとすることもできる。

[0077] いずれの検出方法であっても、本発明の検査デバイスを用いることにより、細孔中で生じた光は検査デバイスの表面から効率よく出射され、光の取り出し効率が高いため、高精度な光検出が可能である。

符号の説明

- [0078] 1 検査デバイス
- 1 0 板状基材
- 1 1 板状基材（検査デバイス）の一方の面
- 1 2 板状基材（検査デバイス）の他方の面
- 1 4 細孔
- 1 4 a 細孔の内壁面
- 1 7 本体部材
- 1 8 a、1 8 b 表面部材
- 3 0 捕捉物質
- 3 2 被検物質
- 3 3 被検物質に特異的に結合する物質
- 3 5 標識物質
- 4 0 柱状中空部
- 4 1 柱状中空部を構成する内壁面
- 4 2、4 3、4 4 反射面
- 4 5、4 9 テーパ面
- 4 8 小径中空部の内壁面
- 5 0 検査装置
- 6 0 溶液供給部
- 6 1 検査用溶液
- 6 2 貯留部
- 6 4 ピペット部
- 6 6 減加圧空間部
- 6 8 ポンプ

7 O 光検出器

F 標識

請求の範囲

- [請求項1] 板状基材の一方の面から他方の面に貫通する複数の細孔を備えた検査デバイスであって、
- 前記細孔が、同一開口径で延びる柱状中空部と、該柱状中空部の前記他方の面側に形成された、前記柱状中空部を構成する内壁面に連続し、前記柱状中空部における開口径よりも該細孔の開口径を小さくする反射面を有し、
- 該反射面と前記他方の面とのなす角度が 0° 以上 45° 以下である検査デバイス。
- [請求項2] 前記細孔の前記柱状中空部の内壁面に特定の物質と特異的に結合する捕捉物質が固定されている請求項1記載の検査デバイス。
- [請求項3] 前記捕捉物質が、抗原、抗体またはデオキシリボ核酸である請求項2に記載の検査デバイス。
- [請求項4] 前記反射面が金属面である請求項1から3のいずれか1項に記載の検査デバイス。
- [請求項5] 前記細孔が、前記一方の面から前記柱状中空部に向かって、該細孔の開口径を徐々に小さくするテーパ部を有する請求項1から4のいずれか1項に記載の検査デバイス。
- [請求項6] 前記板状基材がSi、 SiO_2 、Al、 Al_2O_3 および樹脂材料のうちの1つまたは2つ以上の材料からなる請求項1から5のいずれか1項に記載の検査デバイス。
- [請求項7] 前記反射面を構成する材料が前記柱状中空部を構成する材料と異なる請求項1から6のいずれか1項に記載の検査デバイス。
- [請求項8] 前記細孔の前記柱状中空部における開口径は $1\mu\text{m}\sim 100\mu\text{m}$ である請求項1から7のいずれか1項に記載の検査デバイス。
- [請求項9] 前記板状基材の厚さは $100\mu\text{m}\sim 2000\mu\text{m}$ である請求項1から8のいずれか1項に記載の検査デバイス。
- [請求項10] 請求項1から9のいずれか1項に記載の検査デバイスと、

前記検査デバイスの前記細孔中に検査用溶液を供給する溶液供給部と、

前記検査デバイスの前記一方の面側に配置され、前記検査デバイスから出射される光を検出する光検出器とを備えた検査装置。

[請求項11] 請求項1から9のいずれか1項に記載の検査デバイスの前記細孔の前記柱状中空部の内壁面に特定の物質と特異的に結合する捕捉物質を固定し、

前記特定の物質を含有する検体液を供給して、前記特定の物質を前記捕捉物質に結合させ、

前記特定の物質と特異的に結合する標識物質を前記特定の物質に結合させ、

前記細孔に検査用溶液を供給して該細孔に前記検査用溶液を留めた状態で、前記検査デバイスの前記一方の面から出射される光を検出する検査方法。

[請求項12] 前記標識物質として酵素標識を用い、

前記検査用溶液として、前記酵素標識により触媒されて反応する基質を含む反応液を用い、

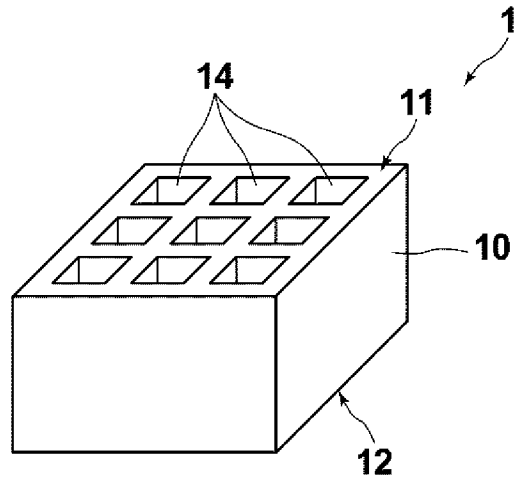
前記出射される光として、前記反応液中の前記基質が前記酵素標識により触媒されて生じる光を検出する請求項11に記載の検査方法。

[請求項13] 前記標識物質として蛍光標識を含む物質を用い、

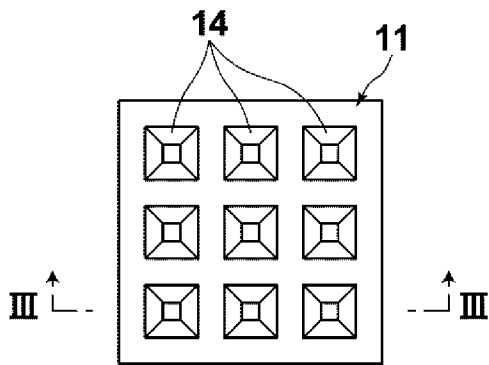
該蛍光標識を励起させる励起光を前記検査デバイスに照射し、

前記出射される光として、前記励起光の照射により前記標識物質から生じる蛍光を検出する請求項11に記載の検査方法。

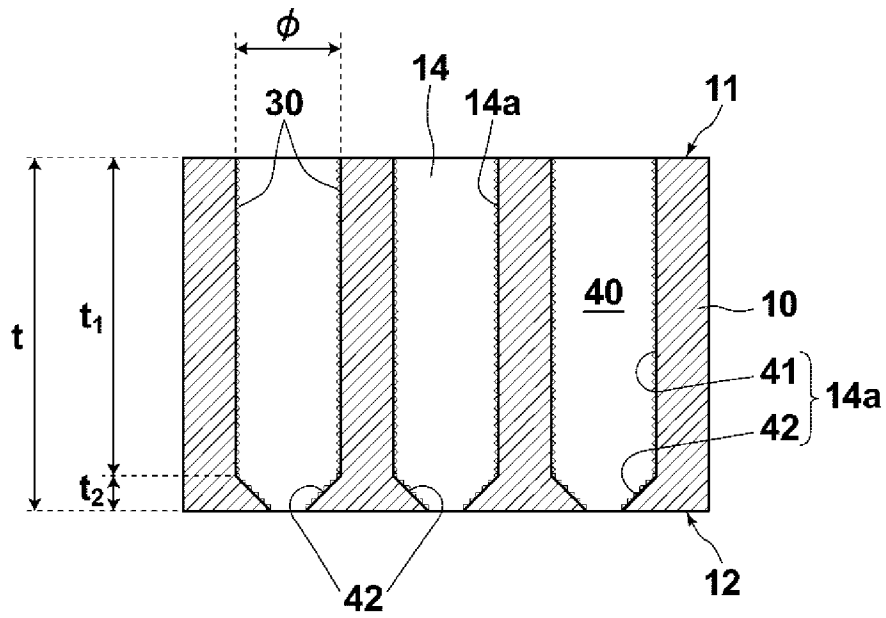
[図1]



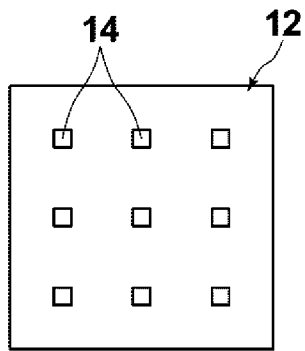
[図2]



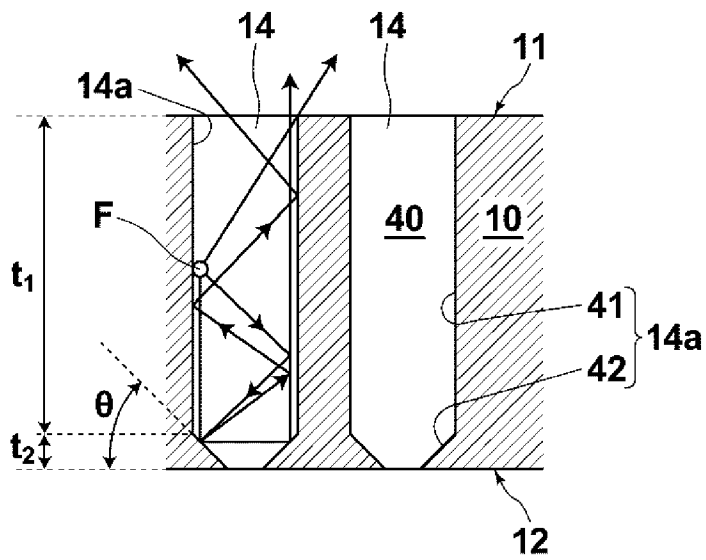
[図3]



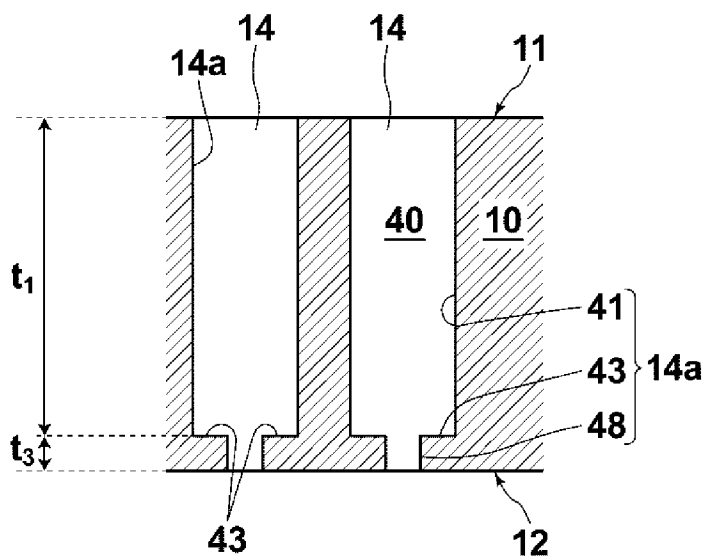
[図4]



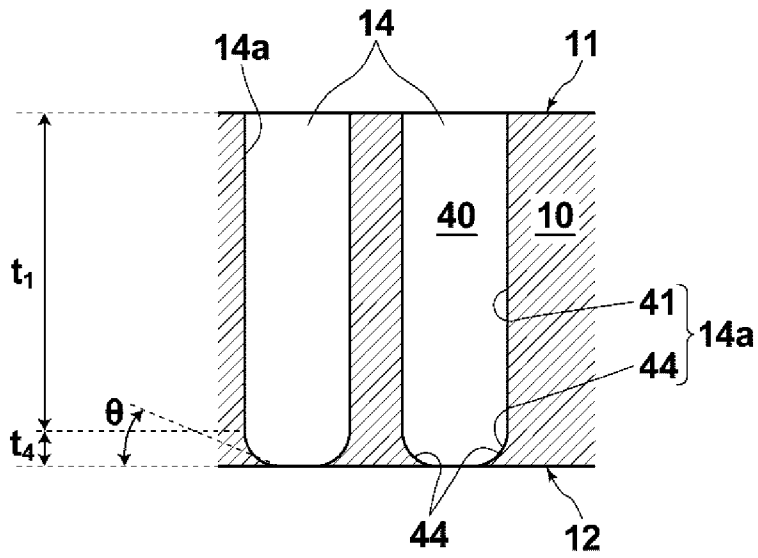
[図5]



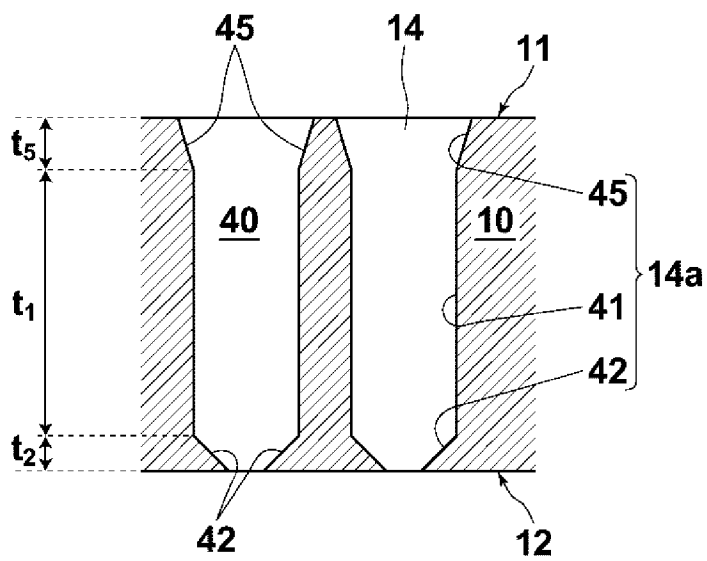
[図6]



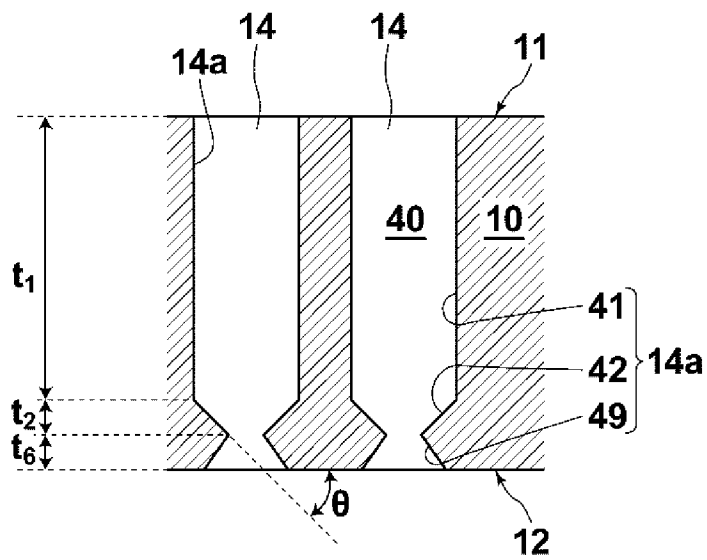
[図7]



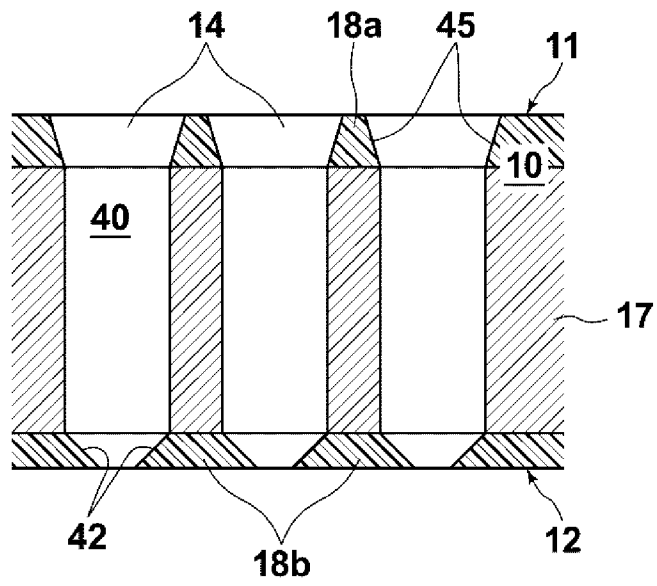
[図8]



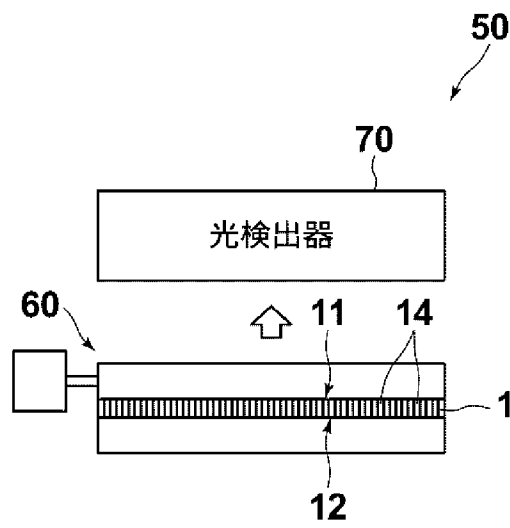
[図9]



[図10]

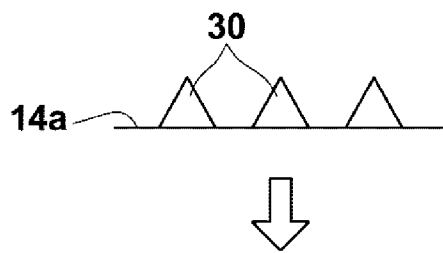
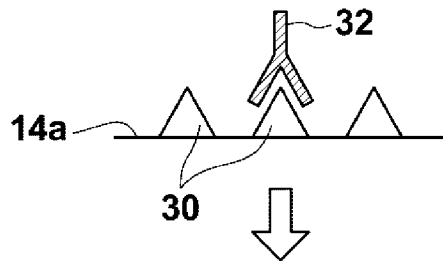
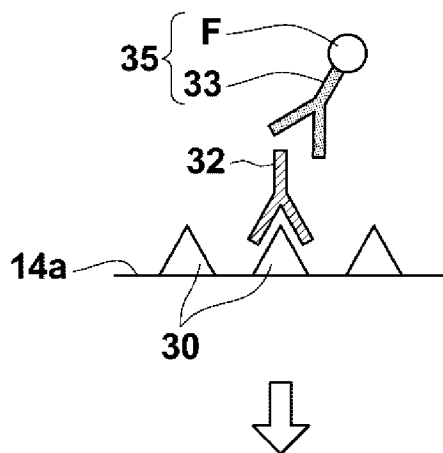
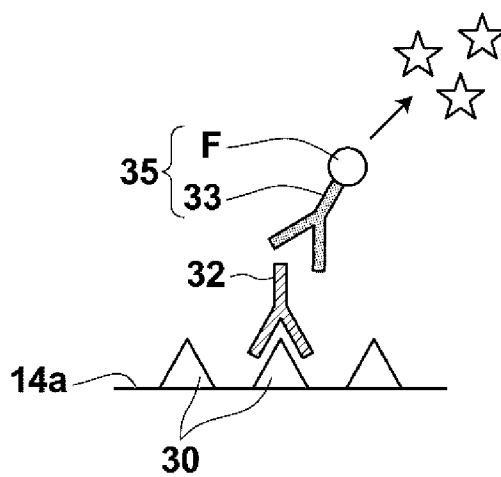


[図11]



This cross-sectional view shows a semiconductor device. A substrate 61 is at the base. A central well structure 62 is formed in the substrate, containing a dashed line representing a fluid or gas. Above the substrate, a series of vertical structures 14 are formed, each with a base 42 and a top 10. A layer 30 is deposited on the top of these structures. A layer 41 is deposited on the top of the structures. A layer 40 is deposited on the top of the structures. A layer 11 is deposited on the top of the structures. A layer 12 is deposited on the top of the structures. A layer 64 is deposited on the top of the structures. A layer 66 is deposited on the top of the structures. A layer 68 is deposited on the top of the structures. A layer 60 is deposited on the top of the structures.

[図13]

S1**S2****S3****S4**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2017/010093

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/543(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G01N21/78(2006.01)i, G01N33/53(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)

G01N33/543, G01N21/64, G01N21/78, G01N33/53

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	1996-2017
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2017	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2017

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 2004-012206 A (Fuji Photo Film Co., Ltd.), 15 January 2004 (15.01.2004), entire text; all drawings (Family: none)	1-13
A	JP 2004-191127 A (Nippon Sheet Glass Co., Ltd.), 08 July 2004 (08.07.2004), entire text; all drawings & GB 2396912 A entire text; all drawings	1-13

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

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
11 July 2017 (11.07.17)

Date of mailing of the international search report
18 July 2017 (18.07.17)

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/JP2017/010093

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2005-113136 A (The Foundation for the Promotion of Industrial Science), 28 April 2005 (28.04.2005), entire text; all drawings & JP 2005-114706 A & JP 2011-53225 A & JP 2011-99865 A	1-13
A	JP 2003-066042 A (Nippon Shokubai Co., Ltd.), 05 March 2003 (05.03.2003), entire text; all drawings (Family: none)	1-13
A	JP 2009-008672 A (Canon Inc.), 15 January 2009 (15.01.2009), entire text; all drawings & US 2008/0297802 A1 entire text; all drawings	1-13
A	JP 2004-286579 A (Kanagawa Academy of Science and Technology), 14 October 2004 (14.10.2004), entire text; all drawings (Family: none)	1-13
A	JP 4125244 B2 (Infineon Technologies AG.), 30 July 2008 (30.07.2008), entire text; all drawings & US 2005/0233438 A1 entire text; all drawings & WO 2003/089925 A2 & EP 1497030 A2 & DE 10217569 A1	1-13

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N33/543(2006.01)i, G01N21/64(2006.01)i, G01N21/78(2006.01)i, G01N33/53(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. G01N33/543, G01N21/64, G01N21/78, G01N33/53

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	1971-2017年
日本国実用新案登録公報	1996-2017年
日本国登録実用新案公報	1994-2017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 2004-012206 A (富士写真フイルム株式会社) 2004.01.15, 全文・全図参照 (ファミリーなし)	1-13
A	JP 2004-191127 A (日本板硝子株式会社) 2004.07.08, 全文・全図参照 & GB 2396912 A, 全文・全図参照	1-13
A	JP 2005-113136 A (財団法人生産技術研究奨励会) 2005.04.28, 全文・全図参照 & JP 2005-114706 A & JP 2011-53225 A & JP 2011-99865 A	1-13

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

11.07.2017

国際調査報告の発送日

18.07.2017

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)

草川 貴史

2 J

4075

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2003-066042 A (株式会社日本触媒) 2003.03.05, 全文・全図参照 (ファミリーなし)	1-13
A	JP 2009-008672 A (キヤノン株式会社) 2009.01.15, 全文・全図参照 & US 2008/0297802 A1, 全文・全図参照	1-13
A	JP 2004-286579 A (財団法人科学技術アカデミー) 2004.10.14, 全文・全図参照 (ファミリーなし)	1-13
A	JP 4125244 B2 (インフィネオン テクノロジーズ アクチエンゲゼルシャフト) 2008.07.30, 全文・全図参照 & US 2005/0233438 A1, 全文・全図参照 & WO 2003/089925 A2 & EP 1497030 A2 & DE 10217569 A1	1-13