

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4341810号
(P4341810)

(45) 発行日 平成21年10月14日(2009.10.14)

(24) 登録日 平成21年7月17日(2009.7.17)

(51) Int.Cl.

F 1

GO 1 N 21/27 (2006.01)
GO 1 N 21/64 (2006.01)GO 1 N 21/27
GO 1 N 21/64C
G

請求項の数 51 (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2002-572385 (P2002-572385)
 (86) (22) 出願日 平成14年3月14日 (2002.3.14)
 (65) 公表番号 特表2004-527741 (P2004-527741A)
 (43) 公表日 平成16年9月9日 (2004.9.9)
 (86) 國際出願番号 PCT/SE2002/000482
 (87) 國際公開番号 WO2002/073171
 (87) 國際公開日 平成14年9月19日 (2002.9.19)
 審査請求日 平成17年3月8日 (2005.3.8)
 (31) 優先権主張番号 0100889-5
 (32) 優先日 平成13年3月14日 (2001.3.14)
 (33) 優先権主張国 スウェーデン(SE)
 (31) 優先権主張番号 60/276,637
 (32) 優先日 平成13年3月16日 (2001.3.16)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 597064713
 ジーイー・ヘルスケア・バイオサイエンス
 ・アクチボラグ
 スウェーデン国エスエー-751 84
 ウプサラ ビヨルクガタン 30
 (74) 代理人 100137545
 弁理士 荒川 聰志
 (74) 代理人 100129779
 弁理士 黒川 俊久
 (72) 発明者 イヴァーソン, ベント
 スウェーデン国 エス-740 22 ベ
 ーリング, フォグテリヴィエーゲン 22
 審査官 横尾 雅一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 内部全反射分光法のための装置及び方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

内部全反射分光法のための光学装置であって、
 透明体(15；35)であって、入射電磁放射(19；37)のための第一の入射表面
 (18；38)と、透明体を通過して第一の表面から伝送された放射を反射するための第二
 の平面内部反射表面(16；36)と第二の表面で反射された電磁放射が透明体を出る
 第三の出射表面(21；40)とを有する透明体(15；35)と、

1 以上の電磁放射源(10；30)と、

1 以上の電磁放射源から放射される放射を平行にして 1 以上の平行電磁放射ビーム(1
 9；37)とするためのコリメート手段(11；31)と、

コリメート手段(11；31)と透明体(15；35)との間に配置され、放射が第二
 の表面(16；36)で内部反射されるように平行電磁放射(19；37)の少なくとも
 一部を透明体に指向せしめるとともに、1 以上の照射領域が少なくとも実質的に一定の
 中心位置を有するように第二表面で所定の角度領域にわたって放射の入射角を逐次又は連続
 的に走査する光学的走査手段(13, 14；33, 34)と、

透明体(15；35)から出る電磁放射を検出するための 1 以上の検出器(D)と、

(i) 透明体(15；35)の第二の平面表面に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム
 (19；37)及び(iii)透明体(15；35)の第二の平面表面から反射される 1 以上
 の平行電磁放射ビーム(19；37)の少なくともいずれかの断面強度を角度走査時の
 第二の表面(16；36)での入射角に依存して変化させて、角度走査時に 1 以上の照射

10

20

領域の入射平面における長さ範囲の変化による第二の平面の一定の中心位置の 1 以上の照射領域での照射量の変化又は 1 以上の反射ビームに対する前記変化の影響を打ち消すための手段 (13 , 14 , 17 , 18 ; 33 , 34 , 38) と
を備える装置。

【請求項 2】

前記透明体 (15 ; 35) の第二の表面に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム (19 ; 37) の断面強度を変化させることを特徴とする、請求項 1 に記載の装置。

【請求項 3】

前記平行電磁放射ビーム (19 ; 37) の断面強度を変化させるための手段が、透明体 (15 ; 35) の第二の表面 (16 ; 36) の入射面での 1 以上の平行電磁放射ビーム (19 ; 37) の断面積の長さを、角度走査時の入射角に依存して、変化させるための手段を含むことを特徴とする、請求項 2 に記載の装置。 10

【請求項 4】

前記透明体の第一の表面 (18 ; 38) が平面であって、 1 以上の平行電磁放射ビームの断面積の長さを変化させるための手段が、第二の内部反射表面 (16 ; 36) での入射角の増大に伴って第一の表面への入射角が連続的に減少するように 1 以上のビーム (19 ; 37) を第一の表面に斜方入射角で指向させるための手段を備えることを特徴とする、請求項 3 に記載の装置。

【請求項 5】

前記光学的走査手段で得られる角度走査振幅は、走査の中心角の周りに対称であることを特徴とする、請求項 1 乃至請求項 4 のいずれか 1 項に記載の装置。 20

【請求項 6】

光学的走査手段と透明体との間に平面な側面の楔形部材 (17) が配置されていて透明体に関して固定されていることを特徴とする、請求項 5 に記載の装置。

【請求項 7】

前記楔形部材が平面側面プリズム (17) であることを特徴とする、請求項 6 に記載の装置。

【請求項 8】

前記走査手段が、第一及び第二の振動ミラー (13 , 14 ; 33 , 34) を備えることを特徴とする、請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項に記載の装置。 30

【請求項 9】

前記第一の振動ミラーの走査角度振幅と第二の振動ミラーの走査角度振幅との比が 1 ~ 10 であることを特徴とする請求項 8 に記載の装置。

【請求項 10】

前記走査手段が第一及び第二の回転ミラーであることを特徴とする請求項 1 乃至請求項 7 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 11】

前記第一の回転ミラーの走査角度振幅と第二の回転ミラーの走査角度振幅との比が 1 ~ 10 であることを特徴とする請求項 10 に記載の装置。

【請求項 12】

前記光学的走査手段で得られる角度走査振幅が、走査の中心角の周りに非対称であることを特徴とする、請求項 1 乃至請求項 4 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 13】

前記走査手段が第一及び第二の振動ミラー (13 , 14 ; 33 , 34) を備えることを特徴とする、請求項 12 に記載の装置。

【請求項 14】

前記第一の振動ミラーの走査角度振幅と第二の振動ミラーの走査角度振幅との比が 1 ~ 10 であることを特徴とする請求項 13 に記載の装置。

【請求項 15】

前記走査手段が第一及び第二の回転ミラーを備えることを特徴とする請求項 12 に記載

10

20

30

40

50

の装置。

【請求項 1 6】

前記第一の回転ミラーの走査角度振幅と第二の回転ミラーの走査角度振幅との比が1～10であることを特徴とする請求項15に記載の装置。

【請求項 1 7】

前記走査手段が第一及び第二の振動ミラー(13, 14)を備えていて、角度走査振幅の走査の中心角の周りに対称である角度走査振幅であって、走査の中心角が平行ビーム(19)の入射範囲の動作角の中心に対応し、平面側面楔形部材であって好ましくはプリズム(17)が光学走査手段(13, 14)と透明体(15)との間に配置され、透明体に關して固定されていることを特徴とする請求項1乃至請求項4のいずれか1項に記載の装置。10

【請求項 1 8】

前記透明体に入射する平行電磁放射又は透明体の第二の表面から反射される1以上のビームの断面強度を変化させるための手段が、入射又は反射ビームの放射出力を変化させるための手段を備えることを特徴とする、請求項1又は請求項2に記載の装置。

【請求項 1 9】

前記ビームの放射出力を、ビームが走査手段によって反射される前に変化させることを特徴とする、請求項18に記載の装置。

【請求項 2 0】

前記1以上の平行電磁放射ビームの放射出力を変化させるための手段が、1以上の電磁放射源の駆動電流又は電圧を制御するための手段を備えることを特徴とする、請求項19に記載の装置。20

【請求項 2 1】

前記1以上の電磁放射源の駆動電流又は電圧を制御するための手段が、検出器に1以上のビームの検出強度に対する制御信号比を含むことを特徴とする、請求項20に記載の装置。

【請求項 2 2】

前記1以上の平行電磁放射ビームの出力を変化させるための手段が、電気機械的ビーム出力減衰器を含むことを特徴とする、請求項18又は請求項19に記載の装置。

【請求項 2 3】

前記電気機械的ビーム出力減衰器が、共同直線偏光子及び可変密度フィルタから選択されることを特徴とする、請求項22に記載の装置。30

【請求項 2 4】

当該装置が、ビームの電磁放射出力を変化させるための手段に加えて、角度走査時の入射角に依存して、透明体の第二の表面での入射平面における1以上の平行電磁放射ビームの断面積の長さを変化させるための手段を含むことを特徴とする、請求項18乃至請求項23のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 2 5】

前記平行電磁放射ビームの断面強度を変化させるための手段が、第一の角度走査範囲に対して、透明体の第二の表面での入射平面における1以上の平行電磁放射ビームの断面積を変化させるための手段と、第二の角度走査範囲に対して、1以上の平行電磁放射ビームの放射出力を好ましくはビームが走査手段によって反射される前に変化させるための手段とを含むことを特徴とする、請求項24に記載の装置。40

【請求項 2 6】

前記透明体が平面側面プリズム(15; 35)であることを特徴とする、請求項1乃至請求項25のいずれか1項に記載の装置。

【請求項 2 7】

前記1以上の検出器(D)が、透明体(15; 35)の第二の表面(16; 36)で内部全反射され、第三の表面(21; 40)から出た電磁放射を検出するために配置されることを特徴とする、減衰全反射(ATR)分光法のための請求項1乃至請求項26のいず50

れか 1 項に記載の装置。

【請求項 2 8】

前記 1 以上の検出器が、透明体の第二の表面と接した 1 以上の物質のエバネセント波励起蛍光又は燐光で生じる電磁放射を検出するために配置されることを特徴とする、請求項 1 乃至請求項 2 6 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 2 9】

前記 1 以上の検出器が、透明体の第二の表面での散乱によって生じる電磁放射を検出するために配置されることを特徴とする、請求項 1 乃至請求項 2 6 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 3 0】

前記 1 以上の検出器が、第二の表面で内部全反射される電磁放射、エバネセント波励起蛍光又は燐光で生じる電磁放射、及び、透明体の第二の表面での散乱による電磁放射の少なくとも 2 つを検出するために配置されることを特徴とする請求項 1 乃至請求項 2 6 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 3 1】

光学的厚さの差に関して表面の薄膜構造を検査するための光学装置であって、特に試料との密着の結果として、様々な光学的厚さの薄膜構造を呈し得る複数のゾーンをもつ 1 以上の検出面 (1 6 ; 3 6) を有するセンサユニットと、

1 以上の電磁放射源 (1 0 ; 3 0) と、

1 以上の電磁放射源から放射される放射を平行にして 1 以上の平行電磁放射ビーム (1 9 ; 3 7) とするためのコリメート手段 (1 1 ; 3 1) と、

上記電磁放射の少なくとも一部を上記センサに結合してセンサの 1 以上の検出面領域を照射するための光学的手段と、

第一の検出手段 (D) と、

(i) 照射された 1 以上の検出面領域から内部反射された放射、(ii) 検出面上の試料のエバネセント波励起蛍光又は燐光による放射及び (iii) 検出面での試料の散乱に起因する放射の少なくともいずれかを第一の検出手段上に結像して、1 以上の照射領域の異なる部分から反射又は発生する放射の強度を検出するための手段と、

1 以上の照射領域が少なくとも実質的に一定の中心位置を有するように、光学的結合手段及び 1 以上の検出面 (1 6 ; 3 6) の 1 以上の照射領域に入射する放射を所定の入射角領域にわたって逐次又は連続的に走査するための手段 (1 3 , 1 4 ; 3 3 , 3 4) と、

1 以上の検出面 (1 6 ; 3 6) に衝突する電磁放射の各入射角を測定するための手段と、

第一の検出手段に結像した放射の検出強度と 1 以上の検出面で反射する放射の入射角との関係から各検出面ゾーンの光学的厚さを求めて、1 以上の検出面の光学的厚さの像を生成する評価手段と、

(i) センサユニットの 1 以上の検出面領域 (1 6 ; 3 6) に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム (1 9 ; 3 7) 及び (ii) 1 以上の検出面領域 (1 6 ; 3 6) から反射される 1 以上の平行電磁放射ビーム (1 9 ; 3 7) の少なくともいずれかの断面強度を角度走査時の 1 以上の検出面での入射角に依存して変化させて、角度走査時に 1 以上の照射領域の入射平面における長さ範囲の変化による 1 以上の検出面の一定の中心位置の 1 以上の照射領域での照射量の変化又は 1 以上の反射ビームに対する前記変化の影響を打ち消すための手段 (1 3 , 1 4 , 1 7 , 1 8 ; 3 3 , 3 4 , 3 8) とを備える光学装置。

【請求項 3 2】

当該装置が、1 以上の検出面 (1 6 ; 3 6) 上に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム (1 9 ; 3 7) の断面強度を変化させるための手段を備えることを特徴とする、請求項 3 1 に記載の装置。

【請求項 3 3】

前記 1 以上の平行電磁放射ビームの断面強度を変化させるための手段が、1 以上の検出

10

20

30

40

50

面での入射面での 1 以上の平行電磁放射ビーム (19 ; 37) の断面積の長さを、角度走査時の入射角に依存して、変化させるための手段を備えることを特徴とする、請求項 3_1 又は請求項 3_2 に記載の装置。

【請求項 3_4】

前記 1 以上の検出面に入射又は検出面から反射される 1 以上の平行電磁放射ビームの断面強度を変化させるための手段が、ビームの放射出力を変化させるための手段を備えることを特徴とする、請求項 3_1 又は請求項 3_2 に記載の装置。

【請求項 3_5】

前記走査手段によってビームが反射される前に、ビームの放射出力を変化させることを特徴とする、請求項 3_4 に記載の装置。

10

【請求項 3_6】

前記 1 以上の平行電磁放射ビームの出力を変化させるための手段が、1 以上の電磁放射源の駆動電流又は電圧を制御するための手段を備えることを特徴とする、請求項 3_5 に記載の装置。

【請求項 3_7】

前記 1 以上の電磁放射源の駆動電流又は電圧を制御するための手段が、1 以上の検出面領域又は、随意的にセンサ機能のない 1 以上の検出面領域で反射された 1 以上のビームの少なくとも一部に露光された検出器から導出された制御信号を含むことを特徴とする、請求項 3_6 に記載の装置。

【請求項 3_8】

当該装置が、第二の検出器手段に結合する手段及びセンサ機能のない検出面の少なくともいずれかで反射される電磁放射の一部を収束するための手段を備え、収束された放射の各位置が、1 以上の検出面に入射する放射の特定の角度及び / 又は波長に関連することを特徴とする請求項 3_1 乃至請求項 3_7 のいずれか 1 項に記載の装置。

20

【請求項 3_9】

前記 1 以上の検出面が、表面プラズモン共鳴を支持する金属の層を含むことを特徴とする、請求項 3_1 乃至請求項 3_8 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 4_0】

第一の検出器手段 (D) が、1 以上の照射検出面領域から内部反射された放射を検出することを特徴とする、請求項 3_1 乃至請求項 3_9 のいずれか 1 項に記載の装置。

30

【請求項 4_1】

第一の検出器手段で、エバネセント波励起蛍光、特に S P R 励起蛍光に起因する放射を検出することを特徴とする、請求項 3_1 乃至請求項 3_9 のいずれか 1 項に記載の装置。

【請求項 4_2】

当該装置が、エバネセント波励起蛍光、特に S P R 励起蛍光に起因する放射を検出するために配置された第三の検出器手段をさらに備えることを特徴とする、請求項 4_0 に記載の装置。

【請求項 4_3】

当該装置が、エバネセント波励起熒光、特に S P R 励起熒光に起因する放射を検出するために配置された第三の検出器手段をさらに備えることを特徴とする、請求項 4_0 に記載の装置。

40

【請求項 4_4】

当該装置が、エバネセント波励起散乱、特に S P R 励起散乱に起因する放射を検出するために配置された第三の検出器手段をさらに備えることを特徴とする、請求項 4_0 に記載の装置。

【請求項 4_5】

内部全反射 (T I R) に基づく分光法を実施する方法であって、当該方法が、電磁放射 (19 ; 37) の 1 以上の平行ビームで透明体 (15 ; 35) の平面表面 (16 ; 36) の 1 以上の領域を照射する工程と、

(i) 1 以上の照射領域から内部反射された放射、(i i) 1 以上の照射領域でのエバ

50

ネセント波励起による蛍光又は熒光放射、及び(i i i)1以上の照射領域でのエバネセント波励起散乱で発生する放射の少なくともいずれかをそれぞれの二次元検出器アレイ(D)に結像する工程と、

1以上の照射領域が少なくとも実質的に一定の中心位置を有するように所定の角度領域にわたって入射角を逐次又は連続的に走査する工程と、

透明体の表面で反射された放射の少なくとも複数の入射角と、検出器アレイの異なる部分で結像した放射の強度とを測定する工程と、

光学的厚さ像、屈折率像、表面の表面集光像及びこれらの像の経時的变化の少なくともいずれかを求める工程と、

(i)透明体(15;35)の平面表面に入射する1以上の平行電磁放射ビーム(19;37)及び(i i)透明体(15;35)の平面表面から反射される1以上の平行電磁放射ビーム(19;37)の少なくともいずれかの断面強度を角度走査時の第二の表面(16;36)での入射角に依存して変化させて、角度走査時に1以上の照射領域の入射平面における長さ範囲の変化による平面の一定の中心位置の1以上の照射領域での照射量の变化又は1以上の反射ビームに対する前記変化の影響を打ち消す工程と
を含む方法。

【請求項46】

前記透明体(15;35)の平面表面(16;36)に入射する1以上の平行電磁放射ビーム(19;37)の断面強度を変化させることを特徴とする、請求項45に記載の方法。

10

20

【請求項47】

当該方法が、1以上の検出面の入射面での1以上の平行電磁放射ビーム(19;37)の断面積の長さを、角度走査時の入射角に依存して、変化させる工程を含むことを特徴とする、請求項45又は請求項46に記載の方法。

【請求項48】

当該方法が、平面表面に入射又は反射する1以上の平行電磁放射ビームの出力を変化させる工程を含むことを特徴とする、請求項45又は請求項46に記載の方法。

【請求項49】

1以上のビームの出力を、ビームの走査前に変化させることを特徴とする、請求項48に記載の方法。

30

【請求項50】

1以上の照射領域から内部反射された放射を検出器アレイ上に結像させることを特徴とする、ATR分光法を実施するための請求項45乃至請求項49のいずれか1項に記載の方法。

【請求項51】

当該方法が2以上の異なる波長で実施されることを特徴とする請求項45乃至請求項50のいずれか1項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

本発明は、内部全反射(TIR)分光法における改良に関し、より詳細には、角度走査を改良したTIR系分光画像、特に減衰全反射(ATR)画像分光法及び顕微鏡法に関する。

【背景技術】

【0002】

内部反射分光法(IRS)としても知られる減衰全反射(ATR)分光法は、低屈折率媒体と接触している高屈折率媒体で内部全反射(TIR)する放射の伝搬波が、低屈折率媒体でエバネセント場を生じるという、2世紀も前のニュートンによる観察に由来する。しかし、この現象が吸収スペクトルの生成に利用されたのは1960年になってからである。そのときから、複数のATR用途が開発され、その多くはバイオセンサーの分野であ

50

った。 A T R に基づくバイオセンサーでは、エバネセント場で、固体 / 液体界面の試料含有媒質の薄膜（約一波長の侵入深さ）を調べ、結果として、薄膜の屈折率の虚数部に比例して反射された放射の測定可能な減衰を生じる（すなわち、吸収分光法）。

【 0 0 0 3 】

周知のように、A T R 分光法におけるスペクトルは反射率対波長曲線又はスペクトルからなり、エバネセント波侵入深さを変化させるため入射角を走査してもよい（例えば、H arrick , N. J. , Internal Reflection Spectroscopy , Harrick Scientific Corp. , New York , 1967 ; 及び Mirabella , F. M. Jr. , Internal Reflection Spectroscopy : Review and Supp 10 lement , Harrick Scientific Corp. , New York , 1985 参照）。エバネセント電場強度増強金属膜又は金属微粒子を有する又は有さない A T R 検出面における光子吸光度は、内部全反射（T I R ）曲線の幾分鋭く深い最小値、すなわち凹みとして検出され、そして、深さ（吸収ピーク）は、検出された試料量の尺度であり、波長は分子の種類を識別するために使用される。

【 0 0 0 4 】

以下 S P R 分光法という A T R 分光法の変法は、固体 / 液体界面の固体媒質に設けられた金属膜又は金属島もしくは微粒子の電気場強化層での表面プラズモン共鳴に基づく。光子吸光度ピークの最小値又は中心に対応する角度（すなわち波長）又は反射率凹み及び / 又は角度の変化は、検出された試料の量の尺度である。具体的には、S P R 角度及び / 又は S P R 波長の変化は、屈折率（n）の実数部の変化及び / 又は、固体 / 液体界面での 1 以上の試料相互作用層の厚さ（d）の変化である。試料が光子吸収できる場合、光子吸光度は、S P R - A P R 曲線の形状（反射率最小値及び凹み幅）の変化によって測定し得る。

【 0 0 0 5 】

試料の表面濃度は、表面濃度と構造パラメータ n, d 及び試料溶質の経験的又は計算された屈折率増加との間の周知の関係を用いた S P R 角度及び / 又は S P R 波長のシフトから計算し得る（De Feijter. ら , Biopolymer 17 (1978) , 1759 ; Salaman, Z. ら , Biochemistry 33 (1994) , 13706 ）。

【 0 0 0 6 】

例えば P 偏光と S 偏光とを併用したもののような幾つかの S P R 分光学光学構成では、光子吸光度は反射率曲線の凹みではなくピークへと変換され、このピークに対する角度（又は波長）位置又は位置のシフトを、検出された試料の量の定量的な尺度又は量の変化として用いる。

【 0 0 0 7 】

S P R 式センサは、研究用及び開発用に市販されている。例えば、B i a c o r e 社（スウェーデン国ウプサラ）からの B I A C O R E (R) 機器ラインである。これらの機器では、金薄膜で覆われたセンサガラスチップと、センサチップ上に試料流体その他の流体を流すための内蔵流体力カートリッジとを用いる。扇型の光ビームをプリズムを介してセンサチップと連結させて、所定の角度範囲の入射光がガラス / 金膜界面のラインに沿って内部反射して金薄膜 / 流体界面にプラズモンエバネセント場を生じ、照射ラインに沿ったセンサスポットの列に対する反射光強度分布を光検出器アレイによって検出する。

S P R スペクトルの凹み又はピークでの角度（又は波長）の検出可能な変化の感度は、主に T I R 曲線の背景光強度の定常性、ドリフト及びノイズの程度によって限定される。理想的には、T I R 曲線は角度に対して一定である。しかし、実際には、光源からの入射角及び放射分布の変化のため、T I R 曲線は、概して、1 以上の最大値を有するガウス曲線であり、低及び高角度限界でのガウス曲線はそれぞれ幾分傾斜している。もちろん、特に速度論的研究（反射率の曲線、形状及び / 又は位置の時間依存性の測定）の場合、問題とする角度又は波長範囲における内部全反射での光強度の安定性が高いほど、「背景」 T 50

I R 曲線の角度（又は波長）依存性が低いほど、S P R 分光法の感度は高い。

【0008】

従って、T I R 曲線をコンピュータソフトウェアアルゴリズムなどで正規化すると、S P R 分光法の感度をさらに高めることができる。これには通常、高度に安定なT I R 曲線データ（すなわち、時間ノイズ及びドリフトが低く、T I R 曲線の曲率及び傾きができるだけ小さく、できるだけ滑らかであること）が必要とされる。例えば、このようなT I R 曲線の計算された正規化は、上述のB I A C O R E (R) 機器において達成され、正規化手順は、用いた角度範囲でT I R を与えるのに十分高い反射率の試料のT I R スペクトルで実施される。現在のB I A C O R E (R) 機器では収束光ビーム（スポット又は線）及び静止光学系を使用するため、照射検出面はT I R に対して固定されている（静止している）。提供された照射量の安定性は、それゆえ、光源におけるノイズ及びドリフトによってのみ制限される。 10

【0009】

従来のA T R 分光法では固定された微小点又は薄線での試料の表面特性を測定するが、入射光ビームのある表面領域にわたって空間走査すると、走査領域でのスペクトル特性分布の像を生じる。この技術は、通常、A T R 顕微鏡法と言われる。従って、例えば、表面プラズマ顕微鏡法（S P M）の様々な変法が、反射率の空間分布の検出のために提案されている。経時的に検出面領域で収束線又は光ビームを空間的に走査するのではなく、問題とする全ての表面領域を短時間照射して結像し、経時的に入射光角度又は波長を走査することも既に報告されている。A T R 顕微鏡法に基づくバイオセンサは、例えば、多数の（又はアレイとして配列した）試料スポットを同時に分析するのに使用できる。 20

【0010】

最後に述べたタイプのA T R センサ装置で全ての表面領域を照射するプローブ用平行ビームの入射角を走査する装置の例が、国際公開第98/34098号に開示されている（全ての開示が、本明細書で参照として援用される。）。この装置の代表図を、本明細書の図1として示す。光源L S をコリメータ光学系C O に照射して、平行光ビームを生成する。ビームは、単色ビームとして干渉フィルタを通過し、第一平面走査ミラーS M 1 に当たって第二走査ミラーS M 2 に向かう。S M 2 はビームをプリズムP r に向けて、検出面S S に光を結合させる。ビームは、結合プリズムのセンサインターフェイス側面で内部全反射される。その後、ビームのP 偏光成分は、偏光子P を通過する。偏光子P でビームは球面対物レンズS O に向けられ、その反射光強度パターンから検出面領域の光検出器アレイ又はマトリクスD 上に実像を生成する。 30

【0011】

検出器アレイD は、センサ領域の実像がアレイの直角部分D に生成し、対物レンズS O の実像平面が光検出器アレイの平面に位置するように配置される。検出器アレイD の数1、2及び3は、センサ表面S S 上のそれぞれ1'、2'及び3'として示す対応サブゾーンのそれぞれの像を与える。

【0012】

2つの走査ミラーS M 1 及びS M 2 は、プリズムP r の検出面側面に所定の入射角範囲内で入射する角度走査された平行ビームを生成するため、対応した回転又は振動運動をする。照射領域の「ビーム移動（beam walking）」（入射面の角度走査時にプリズムP r の入射面での平行光の屈折によって起こり、検出面での不規則な照射（単位領域当たりの照射出力）をもたらす。）は、入射平行光ビームの検出面S S との交差領域が一定の中心をもつように、走査ミラーS M 1 及びS M 2 の運動を同調させ（並びにミラーとプリズムの間の距離と角度及びミラーの走査角度範囲を適合させる）ことによって避けられる。 40

【0013】

上述のA T R マイクロスコープの一般的なタイプでは、角度走査時に検出面を照射する平行光ビームの瞬間的な入射角は、種々の手段によって決定し得る。国際公開第98/34098号では、第2の検出器の検出面で反射される光ビームの一部を検出することによつ 50

て瞬間的入射角を決定することが提案されている。具体的には、対物レンズS0は、その背面の焦点面が光検出器アレイの平面に位置した追加の部品を備えていて、各反射角が検出器領域の特定の線形検出位置に対応するように、反射された平行ビームのごく一部を検出器領域のわずかな直線部分に収束させる。

【0014】

従って、国際公開第98/34098号に記載されたATR顕微鏡では、照射領域の固定された中心は、ビーム移動の場合に比べて、より安定な照射量又は検出面のビーム断面での光出力分布を与えるが、このATR顕微鏡は別の欠点を有する。

【0015】

国際公開第98/34098号では、従来のATR分光法と同様に、平行ビームの中心角は、ATRプリズムの入射面に直角に入射する。しかし、平行ビームの角度走査時に、プリズムの入射面での入射角は斜めであり、一般的な角度範囲は15度である。従って、ビーム移動のない（すなわち角度走査時の中心が固定された）照射ATRセンサ領域であっても、（主にビーム断面積が一定の）入射平行ビームとATR表面との交差領域はランペールのコサイン法則に従って変化するので、入射角によって光強度又は照射量の変化がある。従って、交差領域の長さは一定の中心を有するもの、長さはその中心の周りで「振動」すると言われている。

【0016】

例えば、公差領域がLで表わされるとき、長さL = ビーム直径 / コサイン（入射角）であるいか、或いは長方形ビーム断面の場合にはL = (ビーム断面長) / コサイン（入射角）である。このため、たとえビーム移動をなくしたとしても、センサ領域での入射角が増すと、L（及び照射領域）が増加し、照射量が減少する。照射量は、63度から77度の入射角走査で2.0倍、62度から72度の入射角走査で3.37倍、64度から84度の入射角走査で4.19倍という例示的な因子によって、角度走査時にコサイン（入射角）に比例する。

【0017】

こうしたコサイン（入射角）による光強度の単調な連続的減少によって、TIRデータ対角度曲線が傾く。容易にわかるように、77度での反射率は63度での反射率の約50%であり、84度での反射率は63度での反射率の約25%に過ぎない。

【0018】

このような、入射角の増加にともなう光強度における実質的な減少は、上述のTIR曲線の正規化のようなコンピュータデータ処理で補償するのは容易ではなく、少なくとも複雑な正規化法とソフトウェアがなければ、補償できない。従って、ATR式顕微鏡での角度走査時に光強度が変化する問題を解決する手順が必要である。

【0019】

ATR顕微鏡に関連して、他の顕微鏡技術も、エバネセント場増強金属膜又は組織と共に又はなしで、内部全反射蛍光性（TIRF）、内部全反射熒光及び散乱内部全反射（STIR）のような全反射でのエバネセント波現象に基づく。したがって、上述の角度走査時の光強度の変化の問題を解決することは、他の関連TIR技術においても有用である。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0020】

本発明は、ATR顕微鏡などの従来技術のTIR式顕微鏡の欠点を克服するとともに、追加の利点を提供する。簡潔には、本発明は、入射角の増大に伴う照射センサ表面領域の長さの増大又はかかる長さの増大による影響が打ち消されるように、中心位置が固定された（つまりビーム移動のない）TIRセンサ面に入射する平行ビームの強度を入射角に応じて変化させるという思想に基づく。したがって、この方法では、角度走査時の中心位置が固定されたTIR検出面における放射強度の変化が完全又は少なくとも大幅に低減される。

【0021】

10

20

30

40

50

一つの態様では、本発明は、内部全反射（TIR）分光法のための光学装置であって、透明体であって、入射電磁放射のための第一の入射表面と、透明体を通過して第一の表面から伝送された放射を反射するための第二の平面内部反射表面と第二の表面で反射された電磁放射が透明体を出る第三の出射表面とを有する透明体と、

1 以上の電磁放射源と、

1 以上の電磁放射源から放射される放射を平行にして 1 以上の平行電磁放射ビームとするためのコリメート手段と、

コリメート手段と透明体との間に配置され、放射が第二の表面で内部反射されるように平行電磁放射の少なくとも一部を透明体に指向せしめるとともに、1 以上の照射領域が少なくとも実質的に一定の中心位置を有するように第二表面で所定の角度領域にわたって放射の入射角を逐次又は連続的に走査する光学的走査手段と、

透明体から出る電磁放射を検出するための 1 以上の検出器（D）と、

（i）透明体の第二の平面表面に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム及び（ii）透明体の第二の平面表面から反射される 1 以上の平行電磁放射ビームの少なくともいずれかの断面強度を角度走査時の第二の表面での入射角に依存して変化させて、角度走査時に 1 以上の照射領域の入射平面における長さ範囲の変化による第二の平面の一定の中心位置の 1 以上の照射領域での照射量の変化又は 1 以上の反射ビームに対する前記変化の影響を打ち消すための手段と

を備える装置を提供する。

【0022】

本発明の上記態様の一実施形態では、本装置は、減衰全反射法（ATR）分光法のために使用され、1 以上の検出器は、第二の表面で内部反射され、透明体の第三の表面から出る電磁放射の全てを検出するために配置される。

【0023】

別の実施形態では、1 以上の検出器は、透明体の第二の反射表面と接する 1 以上の物質のエバネセント波励起蛍光又は熒光で生じる電磁放射を検出するために配置される。

【0024】

さらに、別の実施形態では、1 以上の検出器は、透明体の第二の表面での散乱によって生じる電磁放射を検出するために配置される。

【0025】

さらに別の実施形態では、1 以上の検出器は、第二の表面で内部全反射される電磁放射、エバネセント波励起蛍光又は熒光で生じる電磁放射、及び、透明体の第二の表面での散乱によって生じる電磁放射の少なくとも 2 つを検出するために配置される。

【0026】

上述の透明体の入射面及び出射面は、随意的に一つの同じ面であってもよい。

【0027】

別の態様では、本発明は、光学的厚さ（及び／又は屈折率）の差に関して表面の薄膜構造を検査するための光学装置であって、

特に試料との密着の結果として、様々な光学的厚さの薄膜構造を呈し得る複数のゾーンをもつ 1 以上の検出面を有するセンサユニットと、

1 以上の電磁放射源と、

1 以上の電磁放射源から放射される放射を平行にして 1 以上の平行電磁放射ビームとするためのコリメート手段と、

上記電磁放射の少なくとも一部を上記センサに結合してセンサの 1 以上の検出面領域を照射するための光学的手段と、

第一の検出手段（D）と、

（i）照射された 1 以上の検出面領域から内部反射された放射、（ii）検出面上の試料のエバネセント波励起蛍光又は熒光による放射及び（iii）検出面での試料の散乱に起因する放射の少なくともいずれかを第一の検出手段上に結像して、1 以上の照射領域の異なる部分から反射又は発生する放射の強度を検出するための手段と、

10

20

30

40

50

1 以上の照射領域が少なくとも実質的に一定の中心位置を有するように、光学的結合手段及び 1 以上の検出面の 1 以上の照射領域に入射する放射を所定の入射角領域にわたって逐次又は連続的に走査するための手段と、

1 以上の検出面に衝突する電磁放射の各入射角を測定するための手段と、

第一の検出手段に結像した放射の検出強度と 1 以上の検出面で反射する放射の入射角との関係から各検出面ゾーンの光学的厚さを求めて、1 以上の検出面の光学的厚さの像を生成する評価手段と、

(i) センサユニットの 1 以上の検出面領域に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム及び (i i) 1 以上の検出面領域から反射される 1 以上の平行電磁放射ビームの少なくともいはずれかの断面強度を角度走査時の 1 以上の検出面での入射角に依存して変化させて、角度走査時に 1 以上の照射領域の入射平面における長さ範囲の変化による 1 以上の検出面の一定の中心位置の 1 以上の照射領域での照射量の変化又は 1 以上の反射ビームに対する前記変化の影響を打ち消すための手段と
を備える光学装置を提供する。

【 0 0 2 8 】

さらに別の態様では、本発明は、内部全反射 (T I R) に基づく分光法を実施する方法であって、当該方法が、

1 以上の平行電磁放射ビームで透明体の平面表面の 1 以上の領域を照射する工程と、

(i) 1 以上の照射領域から内部反射された放射、(i i) 1 以上の照射領域でのエバネセント波励起による蛍光又は熒光放射、及び (i i i) 1 以上の照射領域でのエバネセント波励起散乱で発生する放射の少なくともいはずれかをそれぞれの二次元検出器アレイ (D) に結像する工程と、

1 以上の照射領域が少なくとも実質的に一定の中心位置を有するように所定の角度領域にわたって入射角を逐次又は連続的に走査する工程と、

透明体の表面で反射された放射の少なくとも複数の入射角と、検出器アレイの異なる部分で結像した放射の強度とを測定する工程と、

光学的厚さ像、屈折率像、表面の表面集光像及びこれらの像の経時的变化の少なくともいはずれかを求める工程と、

(i) 透明体の平面表面に入射する 1 以上の平行電磁放射ビーム及び (i i) 透明体の平面表面から反射される 1 以上の平行電磁放射ビームの少なくともいはずれかの断面強度を角度走査時の第二の表面での入射角に依存して変化させて、角度走査時に 1 以上の照射領域の入射平面における長さ範囲の変化による平面の一定の中心位置の 1 以上の照射領域での照射量の変化又は 1 以上の反射ビームに対する前記変化の影響を打ち消す工程と
を含む方法を提供する。

【 0 0 2 9 】

一実施形態では、本方法は、検出面での結合事象の反応速度論的研究に使用される。

【 0 0 3 0 】

本発明の上述の態様に係る方法の特定の実施形態では、 A T R 分光法が実施され、1 以上の照射領域から内部反射される放射を検出器アレイ上に結像させる。

【 0 0 3 1 】

本発明の上記の装置及び方法の態様の好ましい実施形態では、角度走査時の 1 以上の照射領域の長さ範囲の変化による透明体の表面の 1 以上の照射領域での放射強度の変化は、入射面での 1 以上の平行電磁放射ビームの長さ範囲を角度走査時の入射角に応じて、特に表面での入射角の増大に伴ってビーム断面積が減少するように変化させることによって打ち消される。

【 0 0 3 2 】

さらに、本発明の装置及び方法はそれぞれ 2 以上の異なる波長で使用できるように配置される。

【 0 0 3 3 】

【発明を実施するための最良の形態】

10

20

30

40

50

本発明の上述及び他の態様は、添付の図面の参照及び以下の詳細な説明で理解される。上述のように、本発明は、A T R顕微鏡などのT I R式顕微鏡において、(ビーム移動のある又はない)表面を平行電磁放射で照射して所定の角度範囲にわたって入射角を走査する際のA T Rプリズムの内部反射表面などの内部反射表面での照射の変動の問題を解決に導く。既に示したように、照射の変動は、ビームの内部反射表面での入射角の増大に伴ってビーム交差領域が増すことに起因する。

【0034】

本発明によると、この問題は、角度走査時に内部反射表面の平面における入射平行ビーム放射強度を実質的に一定となるように、内部反射表面での照射強度の不都合な変動或いはこのような変動が反射ビームに与える影響を低減する手段を提供することによって解決される。これは、(i)一定の光出力のビームでは、反射表面での入射角の増大に伴って内部反射表面に入射するビームの断面積(又は円形ビームではビーム直径)を連続的に減少させること、(ii)可変の光出力のビームでは、反射表面での入射角の増大に伴って電磁放射の(入射又は反射)ビームの強度を連続的に増加させること、或いは(iii)選択肢(i)と(ii)の組合せのいずれかによって達成できる。

【0035】

上述の(i)及び(ii)の1以上のアプローチと適宜組み合わせて、例えば検出器からの応答信号を修正するなど、検査器の応答を作用又は修正することによって、このような反射表面での照射の不都合な変化の影響を低減することも、本発明の範囲内である。

【0036】

本明細書及び特許請求の範囲で用いる幾つかの技術用語及び表現は、以下で定義され、又は上掲の国際公開第98/34098号(この開示は、その全てが本明細書で参照として援用される)において定義される。他の場合には、技術用語及び表現は、本発明の属する当業者に共通して理解されるような同じ意味を有する。

【0037】

本明細書で用いる用語「電磁放射」は、可視領域(約400~約700nm)及び赤外領域(約750nm~約20μm)、つまり0.4μm~20μmの波長域の放射を意味する。便宜上、以下の説明においては「光」という。

【0038】

例えば、「電磁放射源」は、発光ダイオード(LED)、レーザダイオード、又は複数のLEDもしくはレーザダイオードのアレイ又はバー(bar)であり得る。便宜上、以下では「光源」という。

【0039】

「透明体」は、一体不可分な要素であっても、2つ(適宜それ以上)の独立した要素が互いに光学的に光結合接触したものであってもよい。内部反射表面を備える透明体は、以下、透明A T R体、或いは単にA T R体又はA T Rプリズムというが、便宜上、全反射の文脈においては、A T Rに制限されない。

【0040】

本明細書で用いる用語「光学的厚さ」は、材料の物理的厚さと屈折率の関数である材料の複合光学特性を定義する。

【0041】

【数1】

【0042】

本発明で得ることのできる光学的厚さの形態計測画像は、屈折率及び/又は物理的厚さの変化を反映し得る。

【0043】

内部反射表面は、A T Rなどの内部全反射で誘導されるエバネセント波で調べられる物質の薄膜を支持され、以下、検出面ということも多々ある。

【0044】

周知のように、エバネセント波を発生させるため光を検出面に結合させる一般的法とし

10

20

30

40

50

ては、プリズムによるものと、格子によるものとの2通りの方法がある。また周知のように、プリズム結合の場合、検出面はプリズムの表面でもよいし、或いはプリズムと例えれば屈折率の一致する媒質を介して光学的に光結合接触したガラス又はプラスチック板のような別個のセンサ素子の表面であってもよい。後者の場合、「内部反射表面」はこの別個のセンサ素子の表面である。格子結合の場合、検出面は格子素子と一体であってもよく、例えれば、反対側の面に格子が形成されたガラス又はプラスチック板の面であってもよいし、或いは格子の一部であってもよい。プリズムの場合と同様に、センサ素子は、格子素子と光学的に接触した別個の要素であってもよい。

【0045】

センサ素子は、或いは、屈折又は回折によって光学的結合を与える表面と一体であってもよく、例えれば、国際公開第92/05426号（この全ての開示が本明細書で参照として援用される）に開示されているような、反対側の面にマイクロプリズム又はフレネルレンズが形成されたガラス又はプラスチック板の面であってもよい。

10

【0046】

上述の選択肢（i）を参照して、ビーム断面の制御された変化は、ATR体の入射表面でのビームの「斜方入射」によって得ることができる。「斜方入射」とは、角度走査が、入射面の垂線の一方の同じ側での角度しか含まないことをいう。こうして、プリズムを通して検出面に当たるビームの入射平面での直径は、角度走査時に変化して、ATR体の内部反射表面での入射角が最小のときに最大となり、入射角が最大のときに最小となって、照射領域の変動を低減するとともに、入射角に伴う検出面上の照射領域の長さの依存性を低減する。

20

【0047】

ATR体への斜方入射によって、検出面の照射領域の照射量の変動は少なくとも実質的に低減されるが、このような斜方入射は、（上記で定義したような）ビーム移動を起こしかねない。

【0048】

照射量の変化を最小限にするための斜方入射と共に走査ミラーを対称的な走査ミラー角度增幅で用いる場合、ATR体に達する前に平行ビームを楔形透明体に通して照射領域の中心が固定されるようにすることによって、ビーム移動を避けることができる。

30

【0049】

上述の国際公開第98/34098号に開示された従来技術のシステムにおけるようなATR体の入射表面でのビームの垂直入射と、対称的な走査ミラー增幅も、対称的な入射角範囲（すなわち、走査ミラーの中心角に対応した中心入射角の周りでの対称的な入射角增幅）、例えは 70.0 ± 6.0 度を与える。しかし、ATR体の入射表面でのビームの「斜法入射」とビーム移動をなくすための楔形透明体に基づく光学的設計では、入射振幅は非対称であり、例えは、 $70.0 + 7.0$ 度から $70.0 - 6.0$ 度の範囲である。

【0050】

或いは、照射の変動を最小限にするためのATR体への斜方入射に起因する平行ビームのビーム移動は、非対称な走査ミラー角度振幅を用いることによって解消することができ、走査ミラー振幅の非対称性は所望の固定照射領域中心を与える。

40

【0051】

一実施形態では、走査ミラーは、第一及び第二の振動ミラーを含み、その角度走査振幅は、走査の中心角に対して対称であり、その中心角は平行ビームの作動可能な中心入射角の範囲に対応する。好適には、第一の振動ミラーの走査角度振幅比に対する第二の振動ミラーの走査角度振幅比は、約1～約10である。

【0052】

別の実施形態では、走査ミラーは第一及び第二の回転ミラーを含む。好適には、第一の回転ミラーの走査角度振幅比に対する第二の回転ミラーの走査角度振幅比は、約1～約10である。

【0053】

50

上記の選択肢 (i i) に関して、光源で生成される光ビームの出力 (すなわち光出力) は、光源の駆動電流 / 電圧の制御によって制御することができ、具体的には、検出面での入射角の増大に伴って駆動電流 / 電圧を増大させる。或いは、光ビームを電気機械的ビーム強度減衰器、例えば、ビームの光強度に対して電気制御可変の減衰効果を有するフィルタ手段、例えば、後の P 偏光子に関連して回転する直線偏光子又は可変 ND フィルタなどに通してもよい。このようなフィルタ手段は、好ましくは、入射光ビームが走査手段によって反射される前に、入射又は反射光ビームのいずれか (又は両方) の光路に配置される。光源駆動電流もしくは電圧又はビーム強度減衰器に対する駆動電流もしくは電圧を制御する際、光検出器からの制御信号 (制御信号は、検出器での検出照射量に比例する) を制御プロセスに使用できる。

10

【0054】

上述の選択肢 (i i i) では、選択肢 (i) (i i) の組合せを使用してもよい。例えば、第一の入射角範囲に対して選択肢 (i) を使用し、第二の入射角範囲に対して選択肢 (i i) を使用するのが好都合であることがあろう。

【0055】

通常、単一光源 (例えば、発光ダイオード又はレーザダイオード) をレンズ系と共に用いて平行ビームを発生させるが、複数の平行ビームを走査手段で並列に走査するために複数の光源を使用することも想定される。こうして、複数の並列検出面を照射して検知してもよい。もちろん、2 以上の光源を使用して結合単一ビームを生成することも可能である。これらの光源は同一の波長を有していてもよいし、異なる波長を有するものでもよい。

20

【0056】

上述の通り、上述の本発明の技術思想は、ATR 分光法以外の他の TIR 式技術にも適用できる。従って、例えば、光の内部全反射ビーム全体の強度を測定する代わりに、内部全反射に起因するエバネセント波での励起によって検出表面から発光する蛍光又は燐光を入射角に対して測定してもよい。このような蛍光又は燐光は、本来的に燐光性又は蛍光性の試料分子、或いは蛍光色素又は燐光色素で標識した分子から発光される。内部全反射蛍光は一般に TIRF と呼ばれる。

【0057】

SPR - TIRF 又は SPR 全反射燐光では、SPR 場を用いて蛍光又は燐光の発光をシミュレートする。

30

【0058】

或いは、検出表面でのエバネセント波での励起散乱による光を入射角に対して測定してもよい。この技術は通常 STIR (scattered total internal reflection) と呼ばれる。

【0059】

TIRF、内部全反射燐光及び STIR の使用は、それぞれ、例えば米国特許第 5313264 号に記載されている。

【0060】

上述の非 ATR 技術のいずれかを ATR (すなわち、内部全反射光ビームの強度測定) と組合せて使用することもできる。

40

【0061】

例えば、米国特許第 6194223 号には、検体を検出するための方法が開示されており、SPR 測定法による第一の信号と蛍光測定法による第二の信号を独立に解析する。

【0062】

国際公開第 98 / 22808 号には、検出面からの反射光を検出するための第一の検出器と、検出面に結合した検体からの散乱又は放射光を検出するための第二の検出器とを備える SPR 装置が開示されている。

【0063】

上述の 3 の特許文献の全ての開示は、本明細書で参照として援用される。

【0064】

50

以下、本発明の幾つかの特定の実施形態に関して例示を目的として本発明を説明する。

【0065】

本発明は、上述の国際公開第98/34098号に開示され、上記で簡潔に説明した図1に概略を示す一般的なタイプのTIR式光学系に有利に適用される。図2は、図1に示す従来技術のシステムの一部の、本発明による変形を示す。図1のシステムと同様に、図2の本発明の実施形態は、光源10（例えば発光ダイオード（LED））、コリメータ光学系11、干渉フィルタ12、第一の走査ミラー13と第二の走査ミラー14の一対の走査ミラー、及び検出面16を有するATRプリズム15を備える。2つの走査ミラー13及び14は、図2に示すように対称的な走査ミラー角度振幅（ $\theta = \pm \theta_0$ ）をもつように配置される。このような走査ミラーは当業者に周知であり、例示的なシステムは上述の国際公開第98/34098号に記載されている。

【0066】

検出面16は、当業者に周知のように、プリズム15に直接設けてもよいし、或いは別個の素子、例えば、例えば欧州特許第442922号に記載されているように浸漬油を介してプリズムに光結合した素子、又は例えば米国特許第5164589号に記載されているようないわゆる光インターフェース（opt interface）のような素子に設けてもよい。検出面自体は様々な検出面のいずれでもよく、本明細書ではこれ以上の説明は避ける。米国特許第5242828号及び同第5436161号に例示的な検出面が記載されていることを挙げておけば十分であろう。（上述の米国及び欧州特許の開示は、本明細書で参照として援用される）

従来技術のシステムとは対照的に、図2の光学系は、さらに、第二の走査ミラー14とATRプリズム15の間に挿入された楔形プリズム17を備える。また、図2の実施形態では、ATRプリズム15の入射光に対する入射面18は入射光ビームに対して傾斜していて、入射角は以下で説明するようにすべての走査角度で傾斜している。

【0067】

光源10及びコリメート光学系11からの平行光ビーム19は走査ミラー13, 14で反射され、楔形プリズム17を介してプリズム15に入り、ビームは検出面16で内部全反射される。反射光は次いで、図示した事例では、平面プリズム側面20で内部全反射され、検出面に平行な平面プリズム側面21を通してプリズムから出る。反射光は、次いで図1に示すように（ただし、図2には示していない）、偏光子及び対物レンズを通して検出器アレイ上に像を生成する。プリズム15の後のビーム光路部品のこれ以上の詳細、並びに光源及びコリメータについては、上述の国際公開第98/34098号を参照されたい。センシング機能なしに検出面の領域に反射された光の部分及び/又は瞬間の入射角（又は波長）を決定するために離れた検出器アレイの一部又は離れた検出器に結合したプリズムに反射光を収束するために有利である。

【0068】

図2において、平行ビームはプリズム15に斜方入射角で入射するが、これは、角度走査時にすべてのビームがプリズムに斜めに当たる、換言すれば、プリズム15の傾斜入射面18の垂線の一方の同じ側にあることを意味し、中心ビームがプリズムの入射面に直角に当たる図1の従来技術のシステムとは対照的である。

【0069】

容易に理解されるように、図2に示す斜方入射によって、傾斜プリズム入射面18でのビームの交差領域の長さ（長さ $L = [\text{ビーム径(角度)} / \cos(\text{角度})]$ ）は検出面16への入射角の増大に伴って連続的に減少するので、中心位置が一定の照射検出面領域の長さはほぼ一定に保たれる。言い換えると、検出面16（入射平面における）でのビーム入射の幅は、角度走査時に、検出面での入射角が最小のときに最大となり、検出面での入射角が最大のときに最小となるように、変化する。

従って、プリズムへの斜方ビーム入射によって、公差領域（及び照射検出面領域）の長さの $\cos(\text{角度})^{-1}$ 依存性が打ち消され、角度走査時の検出面での照射領域及び照射量は実質的に一定となる。

10

20

30

40

50

【0070】

なお、本発明に従って検出面でのビーム公差領域を実質的に一定に保つための A T R プリズムへの斜方ビーム入射と組み合わせて図 2 に示すような対称的な走査角度振幅の走査ミラーを使用する場合、斜方ビーム入射は、ビーム移動（すなわち、照射領域の中心が移動すること）の原因となりかねない。しかし、これは、プリズムへの斜方入射ビームに起因する角度走査の非対称性を打ち消して対称的な角度走査を生じるように選択された幾何形状及び位置にある楔形プリズム 17 によって解消される。

一定の照射領域中心が一定となり、ビーム移動を解消するための、楔形プリズムの入射面の角度、厚さ、出射面の角度を始めとする適当な幾何形状は、楔形プリズム（アナルモフィックプリズム）の光学系での使用自体は公知であることに鑑みれば、個々の状況に応じて当業者が容易に選択し得る。 10

【0071】

例えば、アナルモフィックプリズムに基づくビーム形成は、例えば、O'shea, Donald C., "Elements of Modern Optical Design", Wiley & Sons, Inc. 1985, 259 - 262 頁、及び Marshall, Gerald F., "Laser Beam Scanning", Marcel Dekker, Inc. 1985, 346 - 349 頁に記載されている。新たな断面積比の平行ビームを得るとともに変化したビームが最初のビームと平行に固定されるように、プリズム結合を固定（非走査）平行ビームに固定する。その例は、例えば、市販のコリメーションレーザペンなどにおけるように、ダイオードレーザの橙円形出力を円形ビームへと変形することである。 20

【0072】

また、楔形プリズムに基づくビーム走査は、Marshall, Gerald F., "Scanning Devices and Systems", Applied Optics and Optical Engineering vol. vi, 15, Academic Press Inc. 1980, 248 - 250 頁に記載されている。ビームを屈折させて、走査した屈折出射平行ビームで形成される空間に空間的コーンを形成するため、プリズムへの平行入射ビームを同一直線軸上で回転させる。さらに、同じ原理で、タンデム配置の逆方向に回転する 2 つの楔形プリズムを用いて、スクリーン上の走査ビーム位置の橙円形コーンを形成することが記載されている（上記の 2 つの刊行物の全ての開示内容は本明細書で参照として援用される）。 30

【0073】

対称的なミラー走査角度振幅の主な利点は、ほぼ同じ入射角と時間の関係が得られる k とであり、これによって、走査角中心の周りで対照的な測定角度（時間）データの分布が得られ、ひいては S P R 角度と時間のデータの演算の速度と正確さが向上する。対称的な走査角度振幅の他の利点は、2 つの同調ミラースキナに対する駆動エレクトロニクスの複雑さが低減するとともに、対称的なねじり（チューニング）モーメントによってスキナベアリング設計の摩耗（すなわち、ねじり応力）が低減することである。

【0074】

図 3 に、図 2（曲線 A）の光学設計での反射率と入射角の変動（曲線 A）を、垂直入射と対称的な走査角度振幅での従来技術の設計（曲線 B）と対比して示す。図 3 に示すように、図 2 の実施形態では、従来技術で得られる単調な傾きの曲線（B）ではなく、幾分対称的な曲線形状（A）で最大反射率をもつ反射率の入射角依存性を生じる。当業者に理解されるであろうが、適切なコンピュータソフトウェアアルゴリズムの使用によって、図 2 に示す装置で得られる測定データを、角度走査時のこのような反射率の変化が実質的に低減し制御するように調節することができる。 40

【0075】

上述のように、S P R バイオセンサ機器での T I R 曲線を正規化するため従来技術においてコンピュータソフトウェアアルゴリズムが使用されている。上述の市販の B I A C O R E (R) 機器（静止光学構成）では、このような正規化手順は、以下のステップを含む 50

。

a) 連続的な T I R データ曲線（全反射率対角度曲線又はプロット）を得るために、同じ入射角範囲内における各角度での測定反射率データ対時間のフィルタリング。このような検出器応答信号の時間平均化は、T I R データにおける時間的バラツキ / ノイズを低減する。データのバラツキが少ないほど、凹みとピークの高精度検出に十分な滑らかな曲線へのフィルタリングデータ処理（演算）が迅速になる。

b) フィルタリングした T I R 曲線への解析の曲線のカーブフィッティング。曲線の形状の複雑さが少ないほど、カーブフィッティングデータ処理（演算）は迅速となり、複雑さが低減し、精度が高まる。

c) 解析 T I R データ曲線フィットのための補正データの正規化、演算。正規化補正データマトリクスは、コンピュータメモリに保存され、正規化解析 T I R データ（入射角の関数としてできるだけ一定の内部全反射率）を与えるための解析 T I R データ曲線に加えられる。

【 0 0 7 6 】

試料を S P R 検出面に加えて結合させると、測定 T I R 曲線、共鳴曲線に最小を生じる。共鳴曲線の反射率データはリアルタイムでフィルタリングされ、正規化データマトリクスが加えられる。リアルタイムコンピュータ処理において、解析曲線をこの正規化 S P R 曲線にフィットさせ、曲線の角度位置はリアルタイムで演算される。正規化 T I R 曲線は、S P R 反射率の凹み（又は反射率ピークに変換）の角度位置の測定精度を向上させる。正規化を行わないと、T I R データにおける傾き及び低い空間周波数散乱 / ノイズのため S P R 曲線の曲線形状が乱れ、S P R 曲線の形状パラメータ（反射率最大 / 最小、反射率ピーク、曲線凹み / ピーク幅）又は S P R 角度の測定絶対値及び変化の精度、並びに S P R 角度対時間速度論的測定における測定絶対値及び変化の精度が制限される。

【 0 0 7 7 】

このようなソフトウェアによって、図 2 の実施形態で得られるような角度走査時の反射率の変化に対する調整も改善できることが理解される。

【 0 0 7 8 】

本発明の代替の実施形態を図 4 に示す。図 2 の実施形態と同様に、この実施形態は、光源 3 0 、コリメータ光学系 3 1 、干渉フィルタ 3 2 、第一の走査ミラー 3 3 、第二の走査ミラー 3 4 、及び検出面 3 6 を有する A T R プリズム 3 5 を備える。また、図 2 の実施形態と同じく、光源 3 0 及びコリメータ光学系 3 1 からの平行光ビーム 3 7 はプリズム 3 5 の入射表面 3 8 に傾方入射角で当たるように走査ミラー 3 3 、3 4 で反射され、角度走査時の検出面 3 6 の照射領域の変化を打ち消す。

【 0 0 7 9 】

ただし、図 4 の実施形態では、ビーム移動を解消するために、A T R プリズムでの傾方入射に起因する非対称性が打ち消されるように走査ミラー角度振幅を非対称（図に示すように： ）とすることによって一定の照射領域中心が担保される。この走査ミラー角度振幅の非対称性は、図 2 における楔形プリズム 1 7 の代替手段となる。非対称走査ミラー角度振幅の技術自体は、当業者に公知である。

【 0 0 8 0 】

図 2 の実施形態のように、検出面 3 6 で全反射されたビームは次いで平面プリズム側面 3 9 で反射され、プリズム側面 4 0 を通してプリズム 3 5 から出て、検出器アレイ上で結像される。

【 0 0 8 1 】

図 4 の実施形態で得られる T I R 曲線を、図 5 の図表に示す。図 4 の実施形態で得られる T I R 曲線と同様にして、図 5 の T I R 曲線は適切なコンピュータソフトウェアアルゴリズムによって正規化できる。

【 0 0 8 2 】

前述から、本発明の特定の実施形態が図示の目的のために本明細書に記述されたが、種々の変形が、本発明の意図及び範囲から逸脱することなしに作られ得ることが理解される

10

20

30

40

50

。したがって、本明細書は、添付された請求項によって以外は限定されない。

【図面の簡単な説明】

【0083】

【図1】図1は、従来技術のATR顕微鏡システムの概略図である。

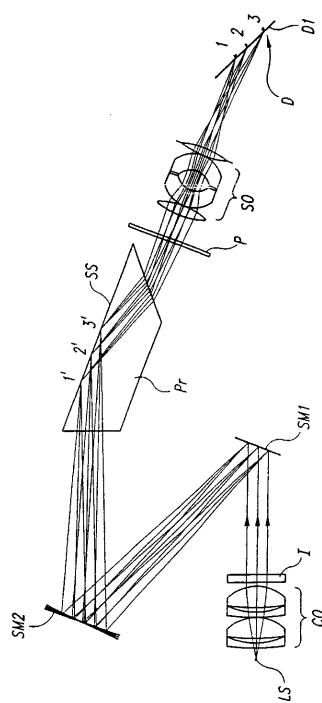
【図2】図2は、本発明の一実施形態の概略図である。

【図3】図3は、角度走査時に固定された中心での(A)図2の装置及び(B)従来技術のATRセンサに対する入射角に対する全反射を示す図である。

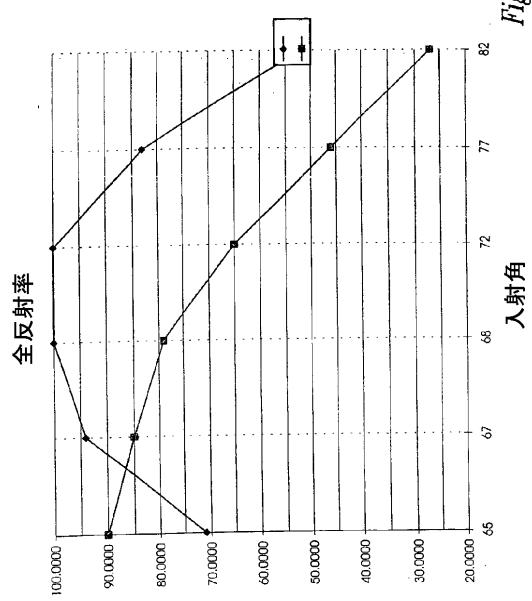
【図4】図4は、本発明に従った装置の他の実施形態の概略図である。

【図5】図5は、図4の装置のための角度走査時の入射角に対する内部全反射(TIR)を示す図である。

【図1】



【図3】



【図4】

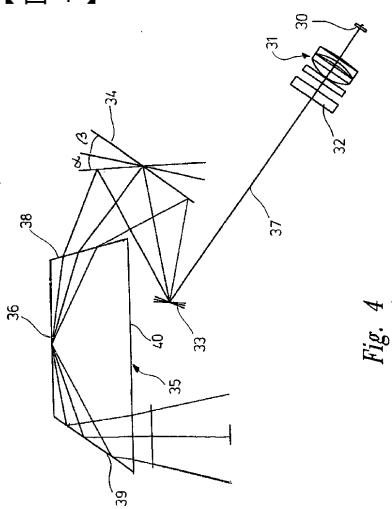


Fig. 4

【図5】

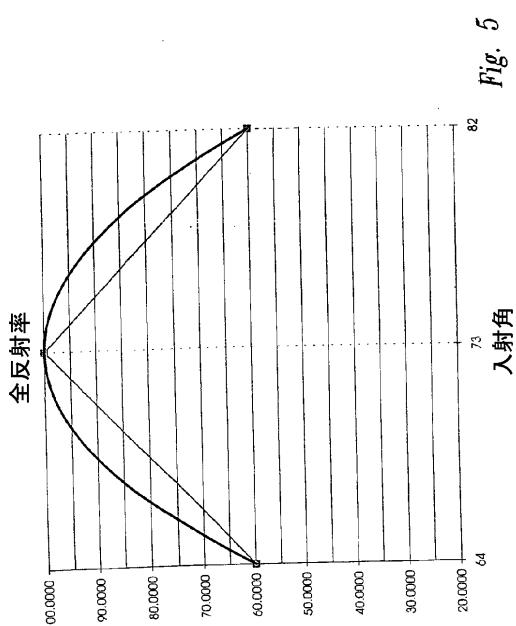


Fig. 5

フロントページの続き

(56)参考文献 特開平11-218491(JP, A)
特開平10-002860(JP, A)
特開平10-078390(JP, A)
特表平11-510613(JP, A)
国際公開第98/034098(WO, A1)
特表2001-511249(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 21/00-21/74