

(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  
2013年1月24日(24.01.2013)



(10) 国際公開番号  
WO 2013/011831 A1

- (51) 国際特許分類:  
G01N 21/27 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/066964
- (22) 国際出願日: 2012年7月3日(03.07.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2011-157242 2011年7月15日(15.07.2011) JP  
特願 2011-157243 2011年7月15日(15.07.2011) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所(National Institute of Advanced Industrial Science and Technology) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関1丁目3番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 藤巻 真 (FUJIMAKI Makoto) [JP/JP]; 〒3058565 茨城県つくば市東1-1-1 中央第5 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 福田 伸子 (FUKUDA Nobuko) [JP/JP]; 〒3058565 茨城県つくば市東1-1-1 中央第5 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 野村 健一 (NOMURA Kenichi) [JP/JP]; 〒3058565 茨城県つく

ば市東1-1-1 中央第5 独立行政法人産業技術総合研究所内 Ibaraki (JP). 永井 秀典 (NAGAI Hidenori) [JP/JP]; 〒5638577 大阪府池田市緑丘1-8-31 独立行政法人産業技術総合研究所 関西センター内 Osaka (JP). 大家 利彦 (OOIE Toshihiko) [JP/JP]; 〒7610395 香川県高松市林町2217-14 独立行政法人産業技術総合研究所 四国センター内 Kagawa (JP).

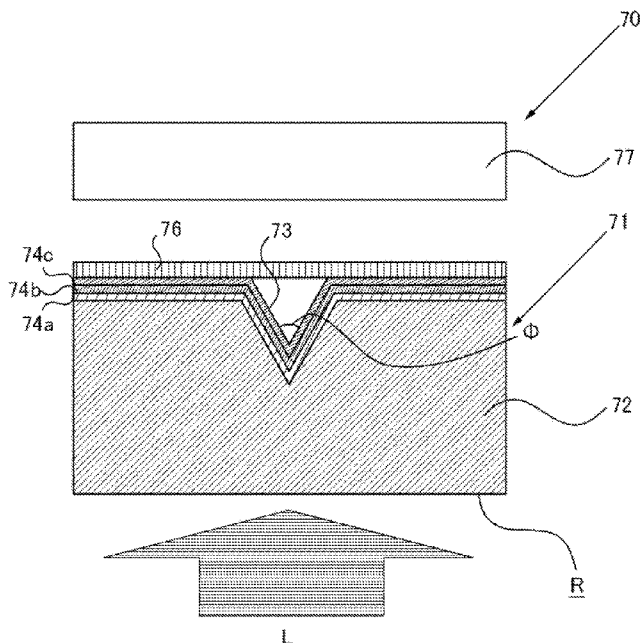
- (74) 代理人: 塩田 伸 (SHIODA Shin); 〒3050032 茨城県つくば市竹園2丁目10-14 和宏ビル201号 ホームタウン特許事務所 Ibaraki (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, 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, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシ

[続葉有]

(54) Title: TARGET SUBSTANCE DETECTION CHIP, TARGET SUBSTANCE DETECTION PLATE, TARGET SUBSTANCE DETECTION DEVICE AND TARGET SUBSTANCE DETECTION METHOD

(54) 発明の名称: 目的物質検出チップ、目的物質検出プレート、目的物質検出装置及び目的物質検出方法

[図25]



(57) Abstract: [Problem] To provide a target substance detection chip which enables a reduction in the number of components of a detection chip used in an SPR sensor and an optical waveguide mode sensor and configured from an optical prism and a detection plate, is compact, inexpensive and easily producible, can detect a target substance rapidly with high sensitivity, and facilitates sending of a liquid to be tested, a target substance detection device and a target substance detection method. [Solution] This target substance detection chip is characterized by comprising a plate-shaped transparent substrate part through which light is transmitted, and a flow path which is formed as a groove in one surface of the transparent substrate part and through which a liquid to be tested for inspecting the presence of a target substance is sent in the length direction of the groove, and characterized in that the flow path is formed by disposing at least an electric field enhancement layer on the inner surface of the groove that is formed to have, in at least a part thereof, an inclined surface inclined with one inclination with respect to the one surface in cross-sectional view, and a part or all of a topmost surface that is in contact with the liquid to be tested of the groove is used as a detection plane for the target substance.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2013/011831 A1

ア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ 添付公開書類:

(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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

---

【課題】SPRセンサー及び光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムと検出板とで構成される検出チップの部品点数を減らし、小型で安価で簡便に製造可能で、目的物質を迅速かつ高感度で検出でき、更に、被検体液の送液が容易な目的物質検出チップ、目的物質検出装置及び目的物質検出方法を提供すること。【解決手段】本発明の目的物質検出チップは、光を透過する板状の透明基体部と、前記透明基体部の一面に溝として形成され、前記溝の長さ方向に目的物質の存在を検証する被検体液が送液される流路と、を有し、前記流路は、断面視で前記一面に対して一の勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有するように形成された溝部の内表面上に、少なくとも電場増強層が配されて形成され、前記溝の前記被検体液と接する最表面の一部又は全部が前記目的物質の検出面とされることを特徴とする。

## 明 細 書

発明の名称：

目的物質検出チップ、目的物質検出プレート、目的物質検出装置及び目的物質検出方法

### 技術分野

[0001] 本発明は、光導波モードや表面プラズモン共鳴を利用して、被検体液中に含まれる目的物質を検出する目的物質検出チップ、該目的物質検出チップを有する目的物質検出プレート、目的物質検出装置及び該目的物質検出装置を用いた目的物質検出方法に関する。

### 背景技術

[0002] 昨今、健康診断、製薬、疾患や伝染病の早期発見、環境汚染検出、テロ対策などのさまざまな分野で、持ち運びが可能で、操作が簡単でかつ高感度に目的物質を検出可能である検出器が必要とされている。

携行が可能な程度に小さく、液体中に含まれる様々な物質の測定が可能なセンサーとしては、表面プラズモン共鳴（SPR；Surface Plasmon Resonance）を用いるSPRセンサーや光導波モードを用いる光導波モードセンサーが知られている（例えば、非特許文献1～19、及び特許文献1～7参照）。これらのセンサーは、疾患に起因する様々なバイオマーカーやウイルスの検出、たんぱく質などの様々なバイオ物質の選択的な検出、環境中に含まれる重金属や油などによる環境汚染の評価、テロに用いられる毒物や違法薬物、爆薬の検出に用いられてきている。

[0003] 図1に、クレッチマン配置と呼ばれる最もポピュラーなSPRセンサー200の構成例を示す。このSPRセンサー200は、透明基板201上に金や銀、アルミニウムなどの金属を蒸着して金属薄膜層202を形成し、透明基板201の金属薄膜層202を形成した面と反対側の面に光学プリズム203を密着させた構造からなり、光源204から照射されるレーザー光を偏光板205にて偏光し、光学プリズム203を通して透明基板201に照射

する。入射光 210A は、全反射となる条件で入射する。入射光 210A の金属の表面側に染み出すエバネセント波によって、ある入射角度で表面プラズモン共鳴が発現する。入射角度  $\theta$  は、光学系を駆動させて適宜変更する。表面プラズモン共鳴が起こると、エバネセント波は表面プラズモンによって吸収されるので、この入射角付近では反射光の強度が著しく減少する。表面プラズモン共鳴が発現する条件は、金属薄膜層 202 表面近傍の誘電率によって変化することから、金属薄膜層 202 の表面において物質の吸着や接近、離脱、変質が生じると、反射光 210B の強度に変化が現れる。よって、金属薄膜層 202 の表面上に被検出試料が結合したり吸着して誘電率に変化が生じると、入射光 210A の反射特性に変化が生じるため、金属薄膜層 202 から反射される反射光 210B の強度変化を光検出器 206 によりモニターすることによって、被検出試料を検出することができる。

[0004] また、SPR センサーにおいて、光学系を簡素化し、小型化を実現した系として、波長分解型測定法が報告されている（例えば、非特許文献 6、7 参照）。図 2 に、非特許文献 6 の報告に係る光学系の SPR センサー 300 の概要を示す。入射光 310A は、光源 301 から光ファイバ 302A を介して光学プリズム 303 の手前まで導かれ、コリメートレンズ 304 によって平行光にされ、偏光板 305 にて p 偏光にされた後に、光学プリズム 303 に入射される。この入射光 310A は、光学プリズム 303 上に密着する形で配された透明基板 306 上の金属薄膜層 307 に照射され、金属薄膜層 307 から反射される反射光 310B として、集光レンズ 308 を通じて光ファイバ 302B で光検出器 309 まで導かれる。ここで光検出器 309 は、分光器 309A を備えており、反射光 310B の反射スペクトルを観測する。この SPR センサー 300 は、前述の SPR センサー 200 と同様に、金属薄膜層 307 表面近傍で誘電率の変化が生じると、反射スペクトルに変化が生じ、誘電率変化を検知できる一方で、前述の SPR センサー 200 と異なり、光学系を駆動させて入射光 310A の金属薄膜層に対する入射角度を変更することなく、反射光 310B を波長分解して測定に供する、つまりス

ペクトルを測定するため、光学系を簡素にし、装置を小型化できる利点を有する。

[0005] 光導波モードセンサーは、SPRセンサーとよく似た構造を持ち、やはりセンサーの検出面における、物質の吸着や誘電率の変化を検出するセンサーである。この光導波モードセンサーは、SPRセンサーで用いることができる全ての光学系と同等の光学系を使用することが可能であることが知られている。

[0006] 図3に、クレッチマン配置と類似の配置を用いた光導波モードセンサー400を示す。光導波モードセンサー400は、透明基板401aと、その上に被覆した金属層又は半導体層で構成される薄膜層401bと、更にこの薄膜層401b上に形成される光導波路層401cとからなる検出板401を用いる。この検出板401の光導波路層401cが形成されている面とは反対側の面に屈折率調節オイルを介して光学プリズム402が密着される。光源403から照射され、偏光板404にて偏光された入射光410Aは、光学プリズム402を通して検出板401に照射される。入射光410Aは、検出板401に対して全反射となる条件で入射する。ある特定の入射角度 $\theta$ において、入射光410Aが光導波路内を伝搬する光導波モード（漏洩モード、又はリーキーモードとも呼ばれる）と結合すると、光導波モードが励起され、この入射角近傍で光の反射光強度が大きく変化する。このような光導波モードの励起条件は、光導波路層401c表面近傍の誘電率によって変化することから、光導波路層401cの表面において物質の吸着や接近、離脱、変質が生じると、反射光410Bの強度に変化が現れる。この変化を光検出器405により観測することにより、光導波路層401c表面における物質の吸着や接近、離脱、変質といった現象を検出することができる。

[0007] また、図4に、図2に示したSPRセンサー300の光学系を光導波モードセンサーに適用した光導波モードセンサー500の概要を示す。該図4に示す光照射手段は、光源501と、光ファイバ502Aと、コリメートレンズ503と偏光板504で構成されている。光源501からの光は、光ファ

イバ502Aに入射され、光学プリズム505に入射しやすい位置に導かれる。光ファイバ502Aの先に配置されたコリメートレンズ503により、光ファイバ502Aからの出射光は、平行光となるように設定される。また、この出射光は、偏光板504にて所望の偏光状態に偏光された後に、光学プリズム505に入射される。光学プリズム505に入射された光は、検出板506で反射され、反射光として光学プリズム505から出射された後、集光レンズ507により集光されて光ファイバ502Bに取り込まれ、分光器508及び光検出器509にて、反射強度又は反射スペクトルを観測可能とされる。検出板506は、透明基板506a上に、金属層又は半導体層で構成される薄膜層506bと、光導波路層506cとがこの順で配されたもので構成され、検出板506の光導波路層506cが配される面と反対側の面に光学プリズム505が光学的に密着されて配される。このような構造を有する光導波モードセンサー500により、入射光が検出板506で反射された後の特性、例えば反射光スペクトルを観測すると、入射光のある特定波長帯域の光が、検出板506の表面に形成された光導波路層506c内及びその近傍を局在的に伝搬する光導波モードを励起する条件を満たし、この波長帯域で反射強度が著しく変化する現象が生じる。この光導波モード励起条件は、検出板506の光導波路層506c表面近傍の誘電率によって変化するため、光導波路層506c表面近傍の誘電率に変化があると、反射スペクトルが変化する。これにより、反射スペクトルの変化又はある特定波長帯域の反射光強度の変化を観測することで、光導波路層506c表面近傍において誘電率変化を引き起こしている原因、例えば、物質の吸着や接近、離脱、変質を光検出器509で検出することができる。

また、光導波モードセンサーでは、光導波路層にナノ孔を形成し検出面の表面積を増大させると、検出感度が飛躍的に向上することがこれまでに報告されている。（例えば、特許文献4、5、非特許文献10～13参照）

[0008] SPRセンサーや光導波モードセンサーには、検出面に光励起発光が可能な物質、例えば蛍光色素など（以下、蛍光物質と呼ぶ）、を付着又は近接さ

せると、蛍光物質の発光を増強する効果もある。この効果は、しばしば、物質検出をする際の信号の増幅に用いられる。例えば、図1中の金属薄膜層202表面近傍に所望の特定物質を捕捉した際、この特定物質が非常に小さい物質であったり、量が著しく少なかったり、その誘電率が周辺媒質と殆ど同じであったりした場合、図1で示した、反射光特性の変化を観測する手法では、十分な信号を得られない場合がある。このとき、捕捉した特定物質に対し、蛍光物質を付着させて標識として用いる。付着した蛍光物質は、励起光によって励起されたプラズモンによる電場増強効果で発光強度が強められるため、前記特定物質の捕捉を間接的に高感度で検出が可能となる。この効果は、図2の金属薄膜層307表面近傍、図3の光導波路層401c表面近傍、図4の光導波路層506c表面近傍でも同様に得られる。

[0009] ここで、蛍光物質からの発光は、図1～4のいずれの場合も、主に検出板の励起光を照射する側とは反対側、つまり蛍光物質が付着している側に発せられることから、この発光を検出するためには、発光を検出する装置、例えばCCDや光電子増倍管、フォトダイオードなどの光検出器を、検出板の検出面側、つまりプリズムを配する面と反対側に配置する。

[0010] 以上に示した、SPRセンサーや光導波モードセンサーは、既に様々な装置も販売され、広く使用されているが、一般的な測定の場合、図1～4に示したような、プリズムと検出板の他に、検出対象となる目的物質を検出面表面に輸送するための輸送路、例えば、被検体が液体の場合、流路を検出面表面に配置する必要がある。そのため、部品点数が多くなり、取扱いが容易でないという問題がある。

また、実際の使用時には、プリズムと検出板と輸送路とを接合させて用いる必要があるが、この接合工程は、検出毎に検出板や輸送路を交換する場合には、毎回行う必要があり、システムが複雑になってしまうという問題点がある。

更に、部品としてのプリズムは、一般的に高精度の研磨を必要とし、高価であるという問題点がある。

[0011] プリズム、検出板及び輸送路を一体的に形成したものとしては、特許文献7に開示のバイオチップが挙げられる。このバイオチップでは、基板に、輸送路としての微細流体チャンネルが形成されるとともに、該微細流体チャンネル中に第1及び第2傾斜面によって形成された複数の楔状の先鋭部が形成されている。また、先鋭部の傾斜面上には、表面プラズモンを励起する金属層と、蛍光体で標識化された標的分子と特異結合する捕捉分子が固定された誘電体層とが形成され、誘電体層に標的物質が固定された場合に、表面プラズモンを通じて励起される蛍光体から蛍光が検出される。

このバイオチップによれば、プリズム、検出板及び輸送路の機能を奏する各部が基板に対して、一体的に形成されており、部品点数を減らすことができる。

しかしながら、このバイオチップにおいては、微細流体チャンネルにおける被検体液の送液方向に対して、先鋭部の傾斜面が対向するように形成され、被検体液の送液を先鋭部が立ち塞ぐように構成されているため、被検体液を微細流体チャンネル中に送液し難いという問題がある。

また、このバイオチップにおいては、標的分子の検出面をなす先鋭部と、輸送路としての微細流体チャンネルとが別個に形成されるため、依然としてシステムが複雑で、生産コストが高くなるという問題がある。

更に、検出面を先鋭部とする構成では、該先鋭部の第1傾斜面に入射される反射光が対向する第2傾斜面に反射されることから、第1傾斜面における標的分子の存在を、反射光の特性変化に基づいて検出する図1～図4の光学系を用いて検出することができないという問題がある。

また、こうしたプリズム、検出板及び輸送路をプレート上に配することで、効率的な検出手法の確立が求められている。

## 先行技術文献

## 特許文献

[0012] 特許文献1：特許第4581135号公報

特許文献2：特許第4595072号公報

特許文献3：特開2007-271596号公報

特許文献4：特開2008-46093号公報

特許文献5：特開2009-85714号公報

特許文献6：国際公開第2010/87088号

特許文献7：特開2010-145408号公報

### 非特許文献

[0013] 非特許文献1：W. Knoll, MRS Bulletin 16, pp. 29-39 (1991年)

非特許文献2：W. Knoll, Annu. Rev. Phys. Chem. 49, pp. 569-638 (1998年)

非特許文献3：H. Kano and S. Kawata, Appl. Opt. 33, pp. 5166-5170 (1994年)

非特許文献4：C. Nylander, B. Liedberg, and T. Lind, Sensor. Actuat. 3, pp. 79-88 (1982/83年)

非特許文献5：K. Kambhampati, T. A. M. Jakob, J. W. Robertson, M. Cai, J. E. Pemberton, and W. Knoll, Langmuir 17, pp. 1169-1175 (2001年)

非特許文献6：O. R. Bolduc, L. S. Live, and J. F. Masson, Talanta 77, pp. 1680-1687 (2009年)

非特許文献7：I. Stammer, A. Brecht, and G. Gugglitz, Sensor. Actuat. B54, pp. 98-105 (1999年)

非特許文献8：M. Osterfeld, H. Franke, and C. Feger, Appl. Phys. Lett. 62, pp. 2310-2312 (1993年)

非特許文献9: E. F. Aust and W. Knoll, *J. Appl. Phys.* 73, p. 2705 (1993年)

非特許文献10: M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, T. Ikeda, Y. Ohki, and T. Komatsubara, *Microelectronic Engineering* 84, pp. 1685–1689 (2007年)

非特許文献11: K. Awazu, C. Rockstuhl, M. Fujimaki, N. Fukuda, J. Tominaga, T. Komatsubara, T. Ikeda, and Y. Ohki, *Optics Express* 15, pp. 2592–2597 (2007年)

非特許文献12: K. H. A. Lau, L. S. Tan, K. Tamada, M. S. Sander, and W. Knoll, *J. Phys. Chem. B* 108, pp. 10812 (2004年)

非特許文献13: M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, Y. Koganezawa, Y. Ohki, and T. Komatsubara, *Optics Express* 16, pp. 6408–6416 (2008年)

非特許文献14: M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, N. Fukuda, Y. Koganezawa, and Y. Ohki, *Nanotechnology* 19, pp. 095503–1–095503–7 (2008年)

非特許文献15: M. Fujimaki, C. Rockstuhl, X. Wang, K. Awazu, J. Tominaga, T. Ikeda, Y. Koganezawa, and Y. Ohki, *J. Microscopy* 229, pp. 320–326 (2008年)

非特許文献16: M. Fujimaki, K. Nomura, K. Sato, T. Kato, S. C. B. Gopinath, X. Wang, K. Awa

zu, and Y. Ohki, Optics Express 18, pp. 15732–15740 (2010年)

非特許文献17: R. P. Podgorsek, H. Franke, J. Woods, and S. Morrill, Sensor. Actuat. B51 pp. 146–151 (1998年)

非特許文献18: J. J. Saarinen, S. M. Weiss, P. M. Fauchet, and J. E. Sipe, Opt. Express 13, pp. 3754–3764 (2005年)

非特許文献19: G. Rong, A. Najmaie, J. E. Sipe, and S. M. Weiss, Biosens. Bioelectron. 23, pp. 1572–1576 (2008年)

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0014] 本発明は、従来における前記諸問題を解決し、以下の目的を達成することを課題とする。即ち、本発明は、SPRセンサー及び光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムと検出板とで構成される検出チップの部品点数を減らし、小型で安価で簡便に製造可能で、目的物質を迅速かつ高感度で検出でき、更に、被検体液の送液が容易な目的物質検出チップ、目的物質検出装置及び目的物質検出方法を提供することを目的とする。

[0015] また、SPRセンサー及び光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムと検出板とで構成される検出チップの部品点数を減らし、小型で安価で簡便に製造可能で、目的物質を迅速かつ高感度で検出でき、更に、被検体液の導入が容易な検出チップを有し、目的物質を効率的に測定可能な目的物質検出プレート、目的物質検出装置及び目的物質検出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

[0016] 前記課題を解決するための手段としては、以下の通りである。即ち、  
<1> 光を透過する板状の透明基体部と、前記透明基体部の一の面に溝

として形成され、前記溝の長さ方向に目的物質の存在を検証する被検体液が送液される流路と、を有し、前記流路は、断面視で前記一の面に対して一の勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有するように形成された溝部の内表面上に、少なくとも電場増強層が配されて形成され、前記溝の前記被検体液と接する最表面の一部又は全部が前記目的物質の検出面とされることを特徴とする目的物質検出チップ。

<2> 透明基体部の流路が形成される面と反対の面が平坦に形成される前記<1>に記載の目的物質検出チップ。

<3> 溝部を構成する左右の溝側面が左右対称に形成される前記<1>から<2>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<4> 電場増強層は、溝部上に表面プラズモン共鳴を発現する表面プラズモン励起層が配されて形成される前記<1>から<3>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<5> 表面プラズモン励起層の形成材料が金、銀、銅、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含む前記<4>に記載の目的物質検出チップ。

<6> 表面プラズモン励起層の表面が透明誘電体で被覆される前記<4>から<5>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<7> 電場増強層は、溝部上に金属材料又は半導体材料で形成される薄膜層と透明材料で形成される光導波路層とがこの順で配されて形成される前記<1>から<3>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<8> 金属材料が金、銀、銅、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含む前記<7>に記載の目的物質検出チップ。

<9> 半導体材料がシリコンである前記<7>に記載の目的物質検出チップ。

<10> 光導波路層がシリカガラスで形成される前記<7>から<9>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<11> 検出面に目的物質を捕捉する表面処理が施される前記<1>か

ら<10>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<12> 流路の開口部を塞ぐように、透明基体部の前記流路が形成される面上に蓋部が配される前記<1>から<11>のいずれかに記載の目的物質検出チップ。

<13> 蓋部は、透明な樹脂材料又はガラス材料で形成される、シール材及び板材のいずれかで構成される前記<12>に記載の目的物質検出チップ。

<14> 蓋部は、反射材及び反射層を持つシール材又は板材のいずれかで構成される前記<12>に記載の目的物質検出チップ。

<15> 前記<1>から<14>のいずれかに記載の目的物質検出チップと、前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射手段と、前記電場増強層から反射された光を検出する光検出手段と、を有することを特徴とする目的物質検出装置。

<16> 前記<1>から<14>のいずれかに記載の目的物質検出チップと、前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射手段と、前記光の照射に基づき、前記流路内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出手段と、を有することを特徴とする目的物質検出装置。

<17> 光照射手段は、光源と、該光源から発せられる光を直線偏光に偏光する偏光板と、を有する前記<15>から<16>のいずれかに記載の目的物質検出装置。

<18> 前記<15>に記載の目的物質検出装置を用いて目的物質を検出する目的物質検出方法であって、目的物質検出チップの流路内に目的物質の存在を検証する被検体液を送液する被検体液送液工程と、前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射工程と、前記電場増強層から反射された光を検出する光検出工程と、を含むことを特徴とする目的物質検出方法。

<19> 前記<16>に記載の目的物質検出装置を用いて目的物質を検出する目的物質検出方法であって、目的物質検出チップの流路内に目的物質の存在を検証する被検体液を送液する被検体液送液工程と、前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射工程と、前記光の照射に基づき、前記流路内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出工程と、を含むことを特徴とする目的物質検出方法。

<20> 目的物質を検出する前記<1>から<11>のいずれかに記載の目的物質検出チップを収容する1つ又は複数の凹状からなる収容部と前記収容部に前記目的物質の存在を検証する被検体液を送液する流路とが形成された透光性のプレート本体と、前記収容部に収容される前記目的物質検出チップと、を有し、前記目的物質検出チップは、その流路が前記プレート本体の前記流路と連結して前記被検体液が導入される検出溝とされることを特徴とする目的物質検出プレート。

<21> プレート本体が円板状の部材からなる前記<20>に記載の目的物質検出プレート。

<22> プレート本体が円板状の部材からなり、その円心に対して、収容部より近い位置に配される被検体液を貯留する被検体液貯留部及び洗浄液を貯留する洗浄液貯留部と、前記収容部より遠い位置に配される前記被検体液及び前記洗浄液からなる廃液を貯留する廃液貯留部と、を有し、前記被検体液貯留部、前記洗浄液貯留部及び前記廃液貯留部のそれぞれが、前記被検体液、前記洗浄液及び前記廃液を送液する前記プレート本体の流路を介して前記収容部と接続される前記<20>から<21>のいずれかに記載の目的物質検出プレート。

<23> 検出溝の形状が、断面視で台形状である前記<20>から<22>のいずれかに記載の目的物質検出プレート。

<24> 検出溝の底面に遮光部が形成されている<23>に記載の目的物質検出プレート。

<25> 1つの目的物質検出チップに対して複数の検出溝が並行して形成される前記<20>から<24>のいずれかに記載の目的物質検出プレート。

<26> 隣接する検出溝の溝部間に間隔を有する前記<25>に記載の目的物質検出プレート。

<27> 溝部間の間隔をなす部位に遮光部が形成されている<26>に記載の目的物質検出プレート。

<28> 前記<20>から<27>のいずれかに記載の目的物質検出プレートと、目的物質検出チップの検出溝が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射手段と、前記光の照射に基づき、前記検出溝内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出手段と、を有することを特徴とする目的物質検出装置。

<29> 前記<28>に記載の目的物質検出装置を用いて目的物質を検出する目的物質検出方法であって、目的物質検出プレートのプレート本体の流路内に被検体液を送液し、目的物質検出チップの検出溝内に前記被検体液を導入する被検体液導入工程と、前記目的物質検出チップの前記検出溝が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射工程と、前記光の照射に基づき、前記検出溝内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出工程と、を含むことを特徴とする目的物質検出方法。

## 発明の効果

[0017] 本発明によれば、従来技術における前記諸問題を解決することができ、SPRセンサー及び光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムと検出板とで構成される検出チップの部品点数を減らし、小型で安価で簡便に製造可能で、目的物質を迅速かつ高感度で検出でき、更に、被検体液の送液が容易な目的物質検出チップ、目的物質検出装置及び目的物質検出方法を提供することができる。

[0018] また、SPRセンサー及び光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムと検出板とで構成される検出チップの部品点数を減らし、小型で安価で簡便に製造可能で、目的物質を迅速かつ高感度で検出でき、更に、被検体液の導入が容易な検出チップを有し、目的物質を効率的に測定可能な目的物質検出プレート、目的物質検出装置及び目的物質検出方法を提供することができる。

### 図面の簡単な説明

[0019] [図1]従来技術に係る表面プラズモン共鳴を用いたSPRセンサーの光学配置の一例を示す説明図である。

[図2]従来技術に係る表面プラズモン共鳴を用いたSPRセンサーの光学配置の他の例を示す説明図である。

[図3]従来技術に係る光導波モードセンサーの光学配置の一例を示す説明図である。

[図4]従来技術に係る光導波モードセンサーの光学配置の他の例を示す説明図である。

[図5(a)]本発明の一実施形態に係る目的物質検出チップを示す斜視図である。

[図5(b)]図5(a)に示す目的物質検出チップの側面図である。

[図5(c)]図5(b)に示す目的物質検出チップの説明図である。

[図6(a)]本発明の他の実施形態に係る目的物質検出チップの平面図である。

[図6(b)]図6(a)のA-A線断面図である。

[図6(c)]図6(a)のB-B線断面図である。

[図7(a)]蓋部を配した状態を示す断面図(1)である。

[図7(b)]蓋部を配した状態を示す断面図(2)である。

[図8(a)]本発明の更に他の実施形態に係る目的物質検出チップの断面図である。

[図8(b)]本発明の更に他の実施形態に係る目的物質検出チップの断面図である。

[図9]本発明の一実施形態に係る目的物質検出装置を示す説明図である。

[図10]本発明の更に他の実施形態に係る目的物質検出チップの断面図である

。

[図11]本発明の更に他の実施形態に係る目的物質検出チップの断面図である

。

[図12]本発明の更に他の実施形態に係る目的物質検出チップの断面図である

。

[図13]本発明の更に他の実施形態に係る目的物質検出チップの断面図である

。

[図14]本発明の他の実施形態に係る目的物質検出装置を示す説明図である。

[図15]本発明の一実施形態に係る目的物質検出プレートを示す説明図である。

[図16]本発明の一実施形態に係る目的物質検出プレートを部分的に説明する説明図である。

[図17(a)]図16のA-A線断面図に相当する図である。

[図17(b)]図16のB-B線断面図に相当する図である。

[図18(a)]本発明の他の実施形態に係る目的物質検出プレートの平面図である

。

[図18(b)]本発明の他の実施形態に係る目的物質検出プレートを部分的に説明する説明図である。

[図19(a)]本発明における目的物質検出チップを示す斜視図である。

[図19(b)]図19(a)に示す目的物質検出チップの側面図である。

[図19(c)]図19(b)に示す目的物質検出チップの説明図である。

[図20]目的物質検出チップの他の例を示す断面図である。

[図21]目的物質検出チップの更に他の例を示す断面図である。

[図22]目的物質検出チップの更に他の例を示す断面図である。

[図23]目的物質検出チップの更に他の例を示す断面図である。

[図24]本発明の一実施形態に係る目的物質検出装置の光学的配置を部分的に

説明する説明図である。

[図25]本発明の実施例に係る目的物質検出装置を示す説明図である。

[図26] p 偏光された直線偏光及び s 偏光された直線偏光を照射したときの、透過光強度の波長依存性を示すグラフである。

[図27]本発明の実施例に係る目的物質検出装置を用いた目的物質の検出結果の例を示す写真である。

[図28]目的物質検出チップの有効性確認のために作製した光学系を示す説明図である。

[図29] p 偏光された直線偏光及び s 偏光された直線偏光を照射したときの、透過光強度の波長依存性を示すグラフである。

### 発明を実施するための形態

#### [0020] (目的物質検出装置及び目的物質検出チップ)

先ず、本発明の目的物質検出チップを有する第1の実施形態について説明する。

本発明の目的物質検出装置は、本発明の目的物質検出チップと、光照射手段と、光検出手段と、必要に応じて、その他の部材とを有する。

本発明の目的物質検出装置では、目的物質として、例えば、ウイルス、たんぱく質、DNA等の生体物質、重金属、油分、毒物、劇物、その他各種分子などを検出することができる。また、誘電率の変化を伴う物質の変質を観測することもできる。

#### [0021] <目的物質検出チップ>

前記目的物質検出チップは、透明基体部と、流路と、必要に応じて、その他の部材とを有する。

#### [0022] ー透明基体部ー

前記透明基体部は、光を透過する板状の部材としてなる。

前記透明基体部の形成材料としては、前記光透過性を有し、前記流路が形成可能である限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、射出成型技術を用いて量産が可能なポリスチレン、ポリカーボ

ネート等のプラスチック材料、高い透明性が確保できるシリカガラス等のガラス材料が好ましい。

[0023] 前記透明基体部は、従来のSPRセンサー又は光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムの役割を有する。

即ち、前記光照射手段から照射される光を、前記透明基体部に形成される後述の溝部の傾斜面に対して、表面プラズモン共鳴又は光導波モードが励起される特定の入射角度で導入する役割を有する。

そのため、前記透明基体部の屈折率の下限としては、1.33以上が好ましく、1.38以上がより好ましく、1.42以上がさらに好ましい。

また、前記屈折率の上限としては、4以下が好ましく、3以下がより好ましい。

なお、この屈折率については、別途図面を用いて後述する。

[0024] 一流路

前記流路は、前記透明基体部の一の面に溝として形成され、前記溝の長さ方向に前記目的物質の存在を検証する被検体液が送液される。また、この流路は、断面視で前記透明基体部の一の面に対して一の勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有するように形成された溝部の内表面上に、少なくとも電場増強層が配されて形成される。ここで、電場増強層とは、表面プラズモン共鳴の励起が可能な層状の構造で形成される層（表面プラズモン励起層）及び、光導波モードの励起が可能な層状の構造で形成される層を指す。電場増強層に関しては、別途後述する。また、前記流路は、溝の前記被検体液と接する最表面の一部又は全部が前記目的物質の検出面とされる。

このような流路の構成によれば、前記被検体液を送液する輸送路としての役割と、前記目的物質を検出する検出面としての役割とを兼備させることができ、前記被検体液を容易に送液することができるとともに、前記輸送路と前記検出面とを別個に形成するよりも生産コストを低減させることができる。

[0025] 前記目的物質検出チップにおける前記流路の数としては、特に制限はなく

、目的に応じて適宜選択することができ、1つでもよいし、複数であってもよい。

前記流路の前記被検体液が流れる方向の形状としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、直線状であってもよいし、曲線状であってもよい。ただし、照射される光が直線偏光である場合、効率よく表面プラズモン共鳴を励起するには、前記傾斜面に対し常にp偏光された光が入射されることが好ましく、また、効率よく光導波モードを励起するには、前記傾斜面に対し常にs偏光又はp偏光された光が入射されることが好ましいことから、前記流路において、前記検出に供される部分は直線状であることが好ましい。

また、前記流路における溝としては、前記透明基体部に形成される前記溝部に前記電場増強層を配して形成されるため、その断面形状としては、前記溝部の形状に相似した形状とされる。

[0026] ー溝部ー

前記透明基体部に前記溝部を形成する方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記溝部を有するように前記透明基体部を射出成型する方法、前記透明基体部に機械的な手段、例えば切削手段を用いて形成する方法などが挙げられる。中でも、安価で生産性良く前記目的物質検出チップを製造することができることから、前記射出成型する方法が好ましい。

[0027] 前記溝部は、断面視で前記透明基体部の一の面に対して一の勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有する。

前記溝部の形状としては、前記傾斜面を少なくとも一部に有するものであれば、特に制限はなく、例えば、断面V字状、断面台形状、断面多角形状などの形状が挙げられる。ただし、前記傾斜面が曲面とされ、一の勾配をもって傾斜する部分を一切有しない断面U字状の形状や断面半円状の形状などは、含まない。前記傾斜面が曲面であると、前記電場増強層における表面プラズモン又は光導波モードの励起が限定的となり、十分に目的物質を検出する

ことができない。

したがって、前記溝部を構成する溝側面には、前記一の勾配をもって傾斜する傾斜面が少なくとも一部に存在する必要がある。一方、こうした観点から、前記傾斜面としては、前記目的物質を検出する検出面に形成されていればよく、前記溝部の長さ方向の全体に亘って形成されている必要はない。

また、前記溝部の長さ方向の全体に亘って前記傾斜面が形成されている場合でも、当該傾斜面のすべてを検出に使用する必要はなく、その一部のみで照射を行い、またはその一部でのみ目的物質の捕捉を行い、検出を行ってもよい。

前記溝部を構成する溝側面としては、このような傾斜面を有する限り特に制限はなく、左右対称に形成されていてもよいし、左右非対称に形成されていてもよい。

なお、これらの詳細については、別途、図面を用いて後述する。

[0028] 前記溝部を前記透明基体部の一の面上からみたときの開口幅、即ち、前記一の面における前記左右の溝側面の間隔としては、特に制限はないが、 $5\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{cm}$ が好ましい。前記開口幅が $5\ \mu\text{m}$ 未満であると、構造が微細なため、作製が困難となり、製造コストが高くなってしまい、また、前記溝部が小さいと、前記流路が狭くなり、粘性の高い液体は流れなくなってしまう。一方、前記開口幅が $5\ \text{cm}$ を超えると、前記流路の内容積もそれにつれて大きくなるため、多くの被検体液が必要となってしまう。

また、前記溝部の深さとしては、特に制限はないが、上記と同じ理由で、 $5\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{cm}$ が好ましい。

また、前記流路を複数配する場合、即ち、前記溝部を複数形成する場合、隣接する溝部の間隔としては、特に制限はないが、 $5\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{cm}$ が好ましい。前記間隔が $5\ \mu\text{m}$ 未満であると、構造が微細なため、作製が困難となり、製造コストが高くなってしまふことや、間隔が狭いことから、隣接する流路間で被検体液の漏れが生じ易く被検体液が混ざってしまう恐れがあり、 $5\ \text{cm}$ を超えると、検出チップ自体が大きくなってしまい、作製時に材料を多

く必要とする、保管時にスペースを取ってしまう、などの不都合が生じることがある。

[0029] ー ー 電場増強層 ー ー

前記電場増強層としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、(A) 前記溝部上に表面プラズモン共鳴を発現する表面プラズモン励起層を配することで形成することができ、また、(B) 前記溝部上に光導波モードを励起する層構造を配することで形成することができる。ここで、前記光導波モードを励起する層構造は、金属材料又は半導体材料で形成される薄膜層と透明材料で形成される光導波路層とをこの順で前記溝部上に配することで形成することができる。

[0030] (A) 前記表面プラズモン励起層の形成材料としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、入射する光の波長において負の誘電率を有する金属材料が挙げられるが、金、銀、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含む金属材料が好ましい。

この金属材料で形成される金属層は、プリズムを介してある入射角度で光を受けると、表面側に染み出したエバネセント波が表面プラズモンの励起条件を満たし、前記金属層の表面に前記表面プラズモン共鳴を発現させる。

前記金属層の厚みとしては、金属材料及び入射する光の波長によってその最適値が決定されるが、この値はフレネルの式を用いた計算から算出が可能であることが知られている。一般的に、近紫外域から近赤外域で表面プラズモンを励起する場合、前記金属層の厚さは数 nm～数十 nm となる。

[0031] 前記表面プラズモン励起層、即ち、前記金属層の形成方法としては、特に制限はなく、蒸着法、スパッタリング法、CVD法、PVD法、スピコート法等の公知の形成方法が挙げられるが、前記溝部が形成される前記透明基体部の形成材料が前記プラスチック材料や前記ガラス材料である場合、前記金属層を直接前記溝部上に形成すると、密着性が低く、簡単にはがれてしまうことがある。

そのため、密着性を向上させる観点から、前記溝部の内表面上にニッケル

やクロムを形成材料とする接着層を形成し、この接着層上に前記金属層を形成することが好ましい。

[0032] 後述する目的物質又は該目的物質を標識化する蛍光物質からの発光を検出する場合、前記目的物質又は前記蛍光物質が、前記金属層に近接すると、発光した光が再度前記金属層に吸収され、発光効率が低下するクエンチングと呼ばれる現象が起こる。

この場合、前記目的物質及び前記蛍光物質を前記金属層の表面から離す目的で、厚みが数 nm から数十 nm 程度の被覆層を形成するとクエンチングが抑制され、発光効率の低下を抑えられることが知られている。

こうしたことから、前記表面プラズモン励起層、即ち、前記金属層の表面が透明誘電体で被覆されることが好ましい。

前記透明誘電体としては、特に制限はなく、シリカガラス等のガラス材料、有機高分子材料、ウシ血清アルブミン等のたんぱく質など、厚さ数 nm から数十 nm の透明膜を形成可能な材料が挙げられる。

[0033] (B) 前記光導波モードを励起する層構造の形成において、前記薄膜層を形成する前記金属材料としては、特に制限はなく、例えば、一般に入手が可能で、安定な金属及びその合金などが挙げられるが、金、銀、銅、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含むことが好ましい。

前記薄膜層を形成する半導体材料としては、特に制限はなく、例えば、シリコン、ゲルマニウム等の半導体材料又は既知の化合物半導体材料が挙げられるが、特にシリコンは安価で加工が容易であるため好ましい。

前記薄膜層の厚みとしては、前記表面プラズモン励起層の金属層と同様で、前記薄膜層の材料及び入射する光の波長によってその最適値が決定されるが、この値はフレネルの式を用いた計算から算出が可能であることが知られている。一般的に、近紫外域から近赤外域の波長帯の光を使用する場合、前記薄膜層の厚さは数 nm ～数百 nm となる。

なお、前記薄膜層として前記金属材料を選択する場合、密着性を向上させるために、前記溝部と前記薄膜層との間に、前述したクロムやニッケルの接

着層を配することが好ましい。

[0034] また、前記光導波路層の形成材料としては、光透過性の高い透明材料であれば特に制限はなく、例えば、酸化シリコン、窒化シリコン、アクリル樹脂等の樹脂材料、酸化チタン等の金属酸化物、窒化アルミニウム等の金属窒化物などが挙げられるが、作製が容易で、化学的安定性が高い酸化シリコンが好ましい。この場合、前記薄膜層を前記シリコンで形成すれば、前記シリコンの層の表面側を酸化させることで、簡便に形成することができる。

[0035] ー表面処理ー

前記目的物質を選択的に検出する場合、特に制限はないが、前記流路の表面、即ち、前記目的物質の検出面に前記目的物質を特異的に捕捉するための表面処理が施されることが好ましい。

前記表面処理の方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記表面プラズモン励起層としての前記金属層に貴金属を用いて前記検出面とする場合には、金属－チオール結合を用いて捕捉物質を前記検出面に固定化させる化学修飾方法などが挙げられ、また、前記金属層を被覆する前記透明誘電体としてシリカガラスなどのガラス材料を用い、このガラス被覆層を前記検出面とする場合には、シランカップリングを用いて前記検出面に捕捉物質を固定化させる化学修飾方法などが挙げられる。

また、前記光導波路層の表面を前記検出面とする場合の表面処理方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記光導波路層として酸化シリコンを用い、その表面を前記検出面とする場合には、前記ガラス被覆層と同様、シランカップリングにて前記検出面に捕捉物質を固定化させる化学修飾方法などが挙げられる。

[0036] ーその他の部材ー

前記その他の部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、蓋部、貫通孔等が挙げられる。

[0037] 前記蓋部は、前記流路に導入される前記被検体液が前記流路からこぼれな

いように、前記流路の開口部を塞ぐように、前記透明基体部の前記流路が形成される面上に配される。

前記蓋部の形成材料としては、特に制限はないが、前記目的物質又は該目的物質を標識化する蛍光物質からの発光を検出する場合、その発光を透過する透明材料で形成されることが好ましい。これにより、前記光検出手段による発光検出に基づき前記目的物質の存在を感度良く検出することができる。

このような蓋部としては、例えば、透明な樹脂材料又はガラス材料で形成される、シール材及び板材のいずれかで構成される。

なお、前記電場増強層から反射される反射光を検出する場合、前記蓋部を、例えば、反射材及び反射層を持つシール材又は板材のいずれかで構成することで、前記反射光を前記透明基体部側に反射させて該透明基体部中に伝搬させるようにしてもよい。

[0038] 前記貫通孔は、前記透明基体を貫通するように形成され、前記流路に前記被検体液を導入し、前記流路に導入された前記被検体液を排出する目的で形成される。

前記貫通孔としては、例えば、2つの前記貫通孔が、それぞれの貫通先の端部が前記流路における前記被検体液が流れる方向の始端と終端とに対して接続されるように、前記透明基体部の前記流路が形成される面と反対の面側から穿設されて設けられる。

[0039] 前記目的物質検出チップの実施形態の例を図面を用いて説明する。

図5(a)に示す本発明の一実施形態に係る目的物質検出チップ1は、透明基体部2の一の面に断面V字状の溝からなる流路3が形成されて構成される。また、流路3は、その断面を説明する図5(b)に示すように、断面V字状に形成された溝部の内表面上に、電場増強層4が配されて形成される。流路3内には、目的物質の存在を検証する被検体液が導入され、その最表面、ここでは電場増強層4の表面が前記目的物質の検出面とされる。

電場増強層4では、図示しない光照射手段から照射される光Lにより、表面プラズモン共鳴又は光導波モードが励起され、層内及び層表面付近に強い

電場が形成される。前記光照射手段では、透明基体部2の流路3が形成される面と反対の面である面R側から光Lを照射する。

[0040] このとき、図5(b)の解説図として示す図5(c)のように、透明基体部2は、点線で示す三角形プリズムとして機能する領域を有し、面R側から照射される光Lを特定の入射角度で電場増強層4に入射させる。即ち、透明基体部2は、SPRセンサー及び光導波モードセンサーにおける光学プリズムとして機能し、電場増強層4の表面近傍での電場を増強させて、この現象に由来する目的物質の検出を可能とする。なお、面Rは、プリズムの入射面として機能することから、平坦性が高いことが好ましい。

[0041] 図5(c)に示す透明基体部2の溝部における底角 $\phi$ は、該溝部を形成する傾斜面に対する光Lの入射角度 $\theta$ によって決定される。例えば、この図5(c)に示す目的物質検出チップ1の例では、透明基体部2の流路3が形成される面とその反対の面である面Rとが平行で、溝部を形成する2つの傾斜面が左右対称で、前記光照射手段から光Lを面Rに対して垂直に入射させる場合としている。この場合の底角 $\phi$ ( $^{\circ}$ )は、 $(90^{\circ} - \theta) \times 2$ となる角度で選択される。

入射角度 $\theta$ は、表面プラズモン共鳴及び光導波モードの励起条件によって決定されることから、底角 $\phi$ は、透明基体部2の形成材料の屈折率及び電場増強層4の構成に依存する。

ここで、透明基体部2の屈折率が低すぎると、入射角度 $\theta$ を大きくする必要があり、ひいては底角 $\phi$ を小さくする必要が生ずる。流路3の開口幅が数 $100\mu\text{m}$ 以下のマイクロ流路の場合、底角 $\phi$ が $30^{\circ}$ 以下である場合には、流路3の形成が難しくなることから、透明基体部2の屈折率としては、 $1.38$ 以上が好ましく、 $1.42$ 以上がより好ましい。一方、加工の難易度が特に問題とならない大きさの流路の場合、透明基体部2の屈折率はさらに低くて良いが、少なくとも水の屈折率 $1.33$ より高いことが好ましい。

一方、透明基体部2の屈折率が高すぎると、光Lを面Rに入射した際、面Rでの反射が強くなってしまい、という問題点がある。また、屈折率が高く

なお且つ透明性も高い材料は候補が限られてしまう。よって、透明基体部2の屈折率としては、4以下が好ましく、3以下がより好ましい。

[0042] 前記目的物質検出チップの他の実施形態を図6(a)を用いて説明する。図6(a)に示す目的物質検出チップ11では、透明基体部12の一の面に4つの流路13が形成される。流路13は、図6(a)のA-A線断面を示す図6(b)に示されるように、それぞれが断面V字状の溝として形成される。また、図6(a)及びそのB-B線断面を示す図6(c)に示されるように、前記被検体液を流路13に導入する貫通孔15と、流路13に導液された被検体液を排出する貫通孔15'とが形成される。

[0043] 図7(a)及び図7(b)は、目的物質検出チップ11に対して、蓋部16を配した状態を示す図である。即ち、蓋部16は、板状又はシート状の部材からなり、流路13の開口を塞ぐように透明基体部12上に配され、流路13から前記被検体液がこぼれることを防止する。この場合、被検体液は図7(b)の貫通孔15の下側開口部より導入され、流路13を流れた後、貫通孔15'の下側開口部より排出される。なお、前記被検体液の送液は、流路13が細かい場合、毛細管現象によって自然に行われるが、効率的に送液するため、圧力を付加した状態で行ってもよい。

[0044] 図8(a)は、溝部の形状をV字状から台形状に変更させた変更例を示す断面図である。即ち、図8(a)に示す目的物質検出チップ21では、透明基体部22と、流路23と、蓋部26とで構成され、流路23としては、台形状に形成される。

溝部の形状ひいては流路の溝形状がV字状である場合、流路の溝側面すべてを検出面として利用できるメリットがある一方、流路の左右の溝側面が交差する底部が鋭角となり、この部分に送液された被検体液及びこの部分に捕捉された目的物質やその他の不純物を洗浄し難くなる。そのため、各検出試験ごとに行われる洗浄に大きな負担がかかるとともに、洗浄しきれなかった被検体液、目的物質及びその他の不純物の存在により、検出に誤りが生ずることがある。

この点、台形状の流路23とすれば、底部が鋭角になることがないため、使用後の被検体液及び目的物質の洗浄が容易となる。この流路23の台形状の底部の幅方向（図中左右方向）の長さとしては、流路23の開口幅を5 $\mu$ m～5cmとしたときに、2 $\mu$ m～4cmが好ましい。

[0045] 図8（b）は、前記流路の溝形状を多角形状に変形させた変更例を示す断面図である。即ち、図8（b）に示す目的物質検出チップ21'では、透明基体部22'と、流路23'と、蓋部26'とで構成され、透明基体部22'の溝部における溝側面、ひいては流路23'の溝側面が多段の勾配をもって形成される。この場合、勾配ごとに異なる励起波長による検出を同時に実施することが可能となる。

なお、流路23'の更なる変更例については、前記目的物質検出装置における具体的な検出方法とともに、後掲の図面で説明をする。

[0046] <光照射手段>

前記光照射手段は、前記目的物質検出チップの前記流路が形成される面と反対の面側から前記電場増強層に光を照射する手段である。

前記光照射手段の構成としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、レーザー、白色ランプ、LEDなどの光源、前記光源からの光をコリメートするコリメータ、前記光源からの光を集光するレンズ、前記光源からの光を偏光する偏光板など、公知の光学部材から適宜選択して構成することができる。

中でも、前記光源から発せられる光を直線偏光に偏光する偏光板を有して構成されることが好ましい。

[0047] <光検出手段>

前記光検出手段は、（C）前記電場増強層から反射される反射光を検出する手段として構成される。また、検出の手段として、前記目的物質又は前記目的物質を標識化する前記蛍光物質からの蛍光を検出する場合には、（D）前記光照射手段から照射される光により、前記流路内に存在する前記被検液中の前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光を検出する手段と

して構成される。これら2つの態様では、前記光検出手段の光学配置が異なる。

[0048] 前記光検出手段の構成としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記(C)の場合、前記反射光を検出するCCD、フォトダイオード、光電子増倍管などの光検出器、前記反射光を前記光検出器に導く光ファイバ、前記反射光を集光して前記光検出器に導く集光レンズなど、公知の光学部材から適宜選択して構成することができる。

また、前記波長分解型測定法を用いる場合、前記光検出手段として、分光器と光検出器とを備えることにより、反射光のスペクトルを測定するか、ある特定波長領域における反射光強度を測定する。

また、前記(D)の場合、前記蛍光を検出するCCD、フォトダイオード、光電子増倍管などの光検出器、前記蛍光を前記光検出器に導く光ファイバ、前記蛍光を集光して前記光検出器に導く集光レンズなど、公知の光学部材から適宜選択して構成することができる。検出される光が前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光に由来するものであるのか、それ以外の光によるものなのかを区別するために、前記蛍光波長帯の光のみを透過する波長フィルタを介して前記光検出器による検出を行ってもよい。

[0049] <その他の部材>

前記その他の部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、連結流路、送液ポンプなどが挙げられる。

前記連結流路としては、目的に応じて様々な機能を持つ流路からなり、例えば、前記被検体液を分離するための分岐部、前記被検体液を混ぜ合わせる合流部を有するものが挙げられ、これらは、前記流路又は前記貫通孔に接続されて配される。

また、前記送液ポンプとしては、前記流路に前記被検体液を送液するポンプなどが挙げられる。

[0050] 前記目的物質検出装置で前記目的物質を検出する具体的な構成例を、図面を用いて以下に説明する。

[0051] 前記目的物質の検出を前記電場増強層から反射される反射光を検出する場合、図9に示すような光学配置とすることができる。

即ち、目的物質検出装置30は、目的物質検出チップ31と、該目的物質検出チップ31の面R側から光L1、L2を照射する光照射手段（不図示）と、該目的物質検出チップ31の左右側部近傍にそれぞれ配される2つの光検出器37、37'とで構成される。目的物質検出チップ31は、透明基体部32と、該透明基体部32の溝部を構成する左右の溝側面を左右対称として形成された流路33と、該流路33の開口を塞ぐように透明基体部32上に形成された蓋部36とで構成される。

目的物質検出チップ31の面R側から流路33に対して照射された光L1、L2は、流路33の2つの傾斜面により、図中左右方向に反射される。ここでは、透明基体部32を空気より屈折率が高い材料で形成すると同時に、蓋部36を透明基体部32の形成材料より屈折率が低い材料で形成することで、各反射光が透明基体部32内で全反射しながら伝搬するように構成されている。また、蓋部36を反射部材により形成しても、同様の効果を得ることができる。

透明基体部32と蓋部36の屈折率が同じか、または蓋部36の屈折率の方が大きい場合は、各反射光は、蓋部36の上側の表面で反射して伝搬することになる。

伝搬した光は、透明基体部32の側面から出射されるため、この位置に光検出器37、37'を配して光を検出する。このとき、効率良く光を光検出器37、37'に取り込むために、透明基体部32の側面（光の出射面）を平坦に形成することが好ましく、よって、必要に応じ、研磨を施すことが好ましい。また、この光の出射面付近に集光レンズを配して、光をより多く光検出器に取り込むことも好ましい。

[0052] 照射する光として、レーザー光のような単色光を用いる場合、入射角度の変更機構により、前記光照射手段を目的物質検出チップ31の面R側で半円を描くように周回させるか、又は目的物質検出チップ31の方を固定された

前記光照射手段の周りで周回させて、入射角度を変えながら、表面プラズモン共鳴又は光導波モードの励起に伴う反射率の変化を観測することで、前記目的物質の捕捉時に生じる反射率の入射角度依存性の変化を捉えて、前記目的物質の有無を検出する。なお、同様の測定は、集光レンズ（不図示）によって、流路33の傾斜面に光を集光しながら角度をつけ、表面プラズモン共鳴又は光導波モードの励起に伴う反射特性の変化を観測することでも実施可能である。

入射角度の変更機構や目的物質検出チップ31を周回させる回転機構は、可動部を必要とするため、検出装置そのものが大型化するデメリットがある。そこで、入射角度を一定の角度に固定した状態で反射光強度を観測し、目的物質の捕捉時に生じる反射光強度の増減を観測することによって、目的物質を検出する手法も好ましい。この場合は、光を流路33の傾斜面に集光する機構も不要である。

[0053] 照射する光として、ランプ光やLEDなどの白色光を用いる場合、光はコリメートした後、目的物質検出チップ31の面R側から入射させる。その反射光は、分光器を備えた検出器37、37'によって検出される。表面プラズモン共鳴又は光導波モードの励起に伴う反射スペクトルを観測し、前記目的物質の捕捉時に生じる反射スペクトルの変化を捉えて、前記目的物質の有無を検出する。この場合も、単色光を用いた時に必要な入射角度の変更機構や光を流路33の傾斜面に集光する機構が不要となるため、装置が簡略化でき好ましい。

[0054] なお、前記白色光を用いる場合、測定中に光の入射角度を変化させると、この入射角度の変化によって、前記反射率の波長依存性が変化するため、前記目的物質の捕捉時の反射特性の変化を読み取ることが難しくなってしまう。

そのため、この場合、光の入射角度は、一定の角度に固定しておくことが好ましい。この角度に関しては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができる。例えば、流路33を構成する2つの傾斜面が左右対称の場合

合、面Rに対して垂直に光を入射すると、左右に配置された光検出器37、37'で目的物質の検出が可能となる。

更にこのとき、図10に示すように、面Rに対して入射角度を傾けると、入射角度 $\theta_1$ と入射角度 $\theta_2$ とで左右の傾斜面に光が入射され、左右の傾斜面で異なる反射特性が得られることから、目的に応じ、左右の面で異なる検出を同時に実施することが可能となる。

[0055] ただし、以上で述べた目的物質検出チップ31の左右の面を両方用いての検出を必ず実施する必要はなく、目的物質検出チップ31の左右のいずれか一方にのみ光検出器37を配置して検出を行ってもよい。また、流路33を構成する2つの傾斜面は、必ずしも左右対称である必要はなく、例えば、図11に示すように、反射光を目的物質検出チップ41の片側でのみ検出する場合は、検出に使用しない側の面の成す角度は、検出に特に影響を与えないことから、どのような形状を取っていてもよく、例えば図に示したように流路43の検出に使用しない側の面を垂直に形成してもよい。なお、図中の符号46は、蓋部を示す。

[0056] また、図12に示すように、流路53を形成する透明基体部52の、溝部を構成する2つの傾斜面を左右非対称として形成すると、それぞれの傾斜面で異なる反射特性が得られるため、2つの異なる検出を同時に実施可能である。なお、図12中の符号51は、目的物質検出チップを示し、符号56は、蓋部を示す。

[0057] 図13に示すように、流路83を形成する透明基体部82の溝部を多角形状に構成し、流路83内に面Rと平行な平面を持たせることで、底部が鋭角になることを避け、被検体液及び目的物質の洗浄を容易に行うことができる。また、透明基体部82の厚さに制限があって、深い流路を形成できない場合には、図13に示す断面形状を持つ流路83を用いることで、図8(a)に示す台形型より、広い傾斜面を得ることができ、より高い感度が期待できる。なお、この場合、底部の凸部の上辺、つまり凸部を構成する2つの傾斜面の間の部分は、この凸部を構成する一方の傾斜面で反射された光がこの凸

部の他方の傾斜面で再度反射されないよう、ある程度の幅を持っていることが好ましい。なお、図13中の符号81は、目的物質検出チップを示し、符号86は、蓋部を示す。

[0058] 前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光を検出する場合の前記目的物質検出装置の構成例を図14に示す。即ち、目的物質検出装置60は、目的物質検出チップ61と、光Lを目的物質検出チップ61の面R側から照射する光照射手段（不図示）と、前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光kを蛍光kの波長帯域の光のみを透過する波長フィルタ68を介して検出する光検出器67とを有する。また、目的物質検出チップ61は、透明基体部62と、その一の面に形成される流路63と、該流路63を塞ぐように透明基体部62上に配される蓋部66と、蓋部66上の流路63の開口と対向する位置以外に配される遮光部69とを有する。図14では、遮光部69は蓋部66の上に形成されているが、これは、透明基体部62の流路63の開口部以外の上面部と蓋部66との間に形成してもよい。

[0059] ここで、照射する光Lとしては、前記目的物質又は前記蛍光色素の励起帯の波長に対応するレーザー光か、光フィルタや分光器などで単色化した光を用いる。入射角度は、反射光の測定時と同様に、面Rに対して垂直に入射してもよく、ある一定の角度を持って入射してもよい。

このとき、前記光照射手段を目的物質検出チップ61の面R側で半円を描くように周回させるか、又は目的物質検出チップ61の方を固定された前記光照射手段の周りで周回させて、光Lの入射角度を変え、流路63の前記電場増強層に光Lを照射すると、表面プラズモン共鳴又は光導波モードが励起される特定の角度において、発光強度が増大する現象が観測でき、観測している発光が表面プラズモン共鳴又は光導波モードによって生じたものか、表面プラズモン共鳴又は光導波モードの励起に関与しない光Lの迷光が前記蛍光物質に照射され、前記目的物質の検出とは無関係に発光したものを確認することができる。

[0060] ただ、反射光を検出する場合と同様で、入射角度の変更機構や目的物質検

出チップ61を周回させる回転機構は、可動部を必要とするため、検出装置そのものが大型化するデメリットがある。装置を小型且つ安価に構成するには、入射角度を一定の角度に固定した状態で蛍光強度を観測し、目的物質を検出する手法が好ましい。

[0061] 蛍光を検出する場合でも、既述の反射光を検出する場合と同様の溝構造の流路を持つ目的物質検出チップを用いることができる。つまり、図5(b)に示したような断面V字状の溝、図8(a)に示すような断面台形状の溝、図8(b)に示すような断面多角形状の溝、図11に示すような一つの傾斜面のみを検出に用いる溝、図12に示すような左右非対称なV字状の溝などが適用可能である。また、図13に示すような断面多角形状の溝も適用可能である。ただし、図8(a)や図13に示す目的物質検出チップのように、流路内に面Rと平行な平面を持つ場合、これらの平面部には、光を減衰させる遮光部を設け、光検出器側に光照射手段からの光がなるべく到達しないようにすることが好ましい。

[0062] 図12に示すように、流路53を構成する2つの傾斜面を左右非対称として形成すると、それぞれの傾斜面で異なる蛍光特性が得られるため、2つの異なる検出を同時に実施可能である。

例えば、左右の面で、それぞれ異なる波長で電場増強が生じるように設定しておく。例えば、左側の面では、550nmの光によって表面プラズモンが励起されるように設定し、右側の面では、660nmの光で表面プラズモンが励起されるように設定する。左側の面では、550nmの励起光で発光する蛍光色素が特異的に吸着されるような検体の測定を実施し、右側の面では、660nmの励起光で発光する蛍光色素が特異的に吸着されるような検体の測定を実施する。光源には、550nmの励起光と、660nmの励起光とをそれぞれ備え、交互に照射するか、交互にフィルタなどで遮光することによって、それぞれの励起光による信号を左右それぞれの面から検出できるため2つの検体を同時に検出することが可能となる。更に、図8(b)のように、流路23'を構成する2つの傾斜面を複数段の異なる角度の面で構

成すれば、さらに多くの異なる励起波長による検出を同時に実施することが可能となる。

[0063] 前記目的物質自体が蛍光 $\lambda$ を発する場合、流路63の検出面で前記目的物質を捕捉し、前記目的物質の発光の有無及び発光強度を観測することによって、前記目的物質の有無及び量が観測できる。

しかし、多くの物質は、強い発光特性を示さないので、流路63の検出面で捕捉した後、前記蛍光物質を前記目的物質に付着させて発光を観測する。

前記蛍光物質を付着させる方法に関しては、特に制限はなく、公知の手法を適用することができ、例えば、前記目的物質に特異的に吸着する抗体に前記蛍光物質を結合させておき、この蛍光物質付きの抗体を前記目的物質に吸着させる方法が挙げられる。

[0064] (目的物質検出方法)

本発明の目的物質検出方法のひとつは、本発明の前記第1の実施形態に係る前記目的物質検出装置を用いて前記目的物質を検出する方法であって、被検体液導入工程と、光照射工程と、光検出工程とを含む。

[0065] 前記被検体導入工程は、前記目的物質検出チップの前記流路内に前記目的物質の存在を検証する被検体液を導入する工程である。

前記光照射工程は、前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する工程である。

前記光検出工程は、(E)前記電場増強層から反射された光を検出する工程、又は(F)前記光照射工程で実施される前記光の照射に基づき、前記流路内に存在する前記被検体液中の前記目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する工程である。

これらの工程は、前記目的物質検出チップ及び前記目的物質検出装置で説明した事項により適宜実施することができる。

[0066] (目的物質検出装置及び目的物質検出プレート)

次に、本発明の目的物質検出プレートを有する第2の実施形態について説明する。

本発明の目的物質検出装置は、本発明の目的物質検出プレートと、光照射手段と、光検出手段と、必要に応じて、その他の部材とを有する。

本発明の目的物質検出装置では、目的物質として、例えば、ウイルス、たんぱく質、DNA、バイオマーカー等の生体物質、汚染物質、毒物、劇物、その他各種分子などを検出することができる。

[0067] <目的物質検出プレート>

前記目的物質検出プレートは、透光性のプレート本体と、前記目的物質を検出する目的物質検出チップとを有する。

[0068] プレート本体

前記プレート本体は、前記目的物質検出チップを収容する1つ又は複数の凹状からなる収容部と前記収容部に前記目的物質の存在を検証する被検体液を送液する流路とが形成されてなる。

[0069] 前記プレート本体の形状としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、円板状、三角板状、四角板状などのプレート部材が挙げられる。

前記プレート本体の形成材料としては、透光性を有する限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、環状ポリオレフィン、アクリル、ポリスチレン、ポリカーボネートなどのプラスチック材料や高い透過性が確保できるガラス材料が挙げられる。

[0070] 前記収容部の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記プレート本体を射出成型で形成する方法、前記プレート本体に切削等の機械的加工を施して形成する方法などが挙げられる。

前記収容部の凹部の形状としては、特に制限はなく、収容する前記目的物質検出チップの形状、大きさに応じて適宜選択することができる。

なお、前記凹部の底面は、収容する前記目的物質検出チップの一面と安定的に接するように、平坦な面として形成されることが好ましい。

[0071] 前記流路の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択す

ることができ、例えば、前記プレート本体を射出成型で形成する方法、前記プレート本体に切削等の機械的加工を施して形成する方法などが挙げられる。

前記流路の前記プレート本体を平面からみたときの平面形状としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、直線状、曲線状などとすることができる。例えば、前記プレート本体が円板状である場合には、その回転方向に沿う形の曲線状とすることができる。

また、その断面形状としては、例えば、その断面で凹状、V字状、半円状、半楕円状、台形状などとすることができる。

[0072] 前記プレート本体としては、特に制限はないが、更に、前記被検体液を貯留する被検体液貯留部、前記被検体液を洗浄する洗浄液を貯留する洗浄液貯留部、前記被検体液及び前記洗浄液からなる廃液を貯留する廃液貯留部を有していてもよい。また、これらの液体がこぼれることを防ぐための蓋部を有していてもよい。また、これらの貯留部に液体がスムーズに入っていくように、貯留部の空気を抜くベント穴を形成しておくことも好ましい。

[0073] ー目的物質検出チップー

前記第2の実施形態における前記目的物質検出チップは、前記第1の実施形態について説明した前記目的物質検出チップと略同等の構成とすることができるが、この第2の実施形態における前記目的物質検出チップは、前記第1の実施形態について説明した前記目的物質検出チップの流路を、前記プレート本体の前記流路と連結して前記被検体液が導入される検出溝とする。以下では、前記第2の実施形態における前記目的物質検出チップを説明する。

前記目的物質検出チップは、前記収容部に収容され、透明基体部と、検出溝とを有する。

なお、前記目的物質検出チップは、前記収容部の底面に対して、前記透明基体部の前記検出溝が配される面と反対側の面が接合するように収容される。

また、前記目的物質検出チップとしては、前記収容部に対して固定状態で

收容されてもよいし、固定することなく收容されてもよい。

固定されない場合、前記收容部の中で前記目的物質検出チップの位置が変動しないように、位置規制することが好ましい。例えば、前記收容部を四角柱状、楕円柱状に切り出し、その内部に前記收容部の大きさよりもわずかに小さい四角柱状、楕円柱状の前記目的物質検出チップを配することで、位置規制される。

[0074] — 透明基体部 —

前記透明基体部は、光を透過する板状の部材としてなる。

前記透明基体部の形成材料としては、前記光透過性を有し、前記検出溝が形成可能である限り特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、射出成型技術を用いて量産が可能なポリスチレン、ポリカーボネート等のプラスチック材料、高い透明性が確保できるシリカガラス等のガラス材料が好ましい。

[0075] 前記透明基体部は、従来のSPRセンサー又は光導波モードセンサーに用いられる光学プリズムの役割を有する。

即ち、前記光照射手段から照射される光を、前記検出溝に形成される後述の溝部の傾斜面に対して、表面プラズモン共鳴又は光導波モードが励起される特定の入射角度で導入する役割を有する。

そのため、前記透明基体部の屈折率の下限としては、1.33以上が好ましく、1.38以上がより好ましく、1.42以上がさらに好ましい。また、前記屈折率の上限としては、4以下が好ましく、3以下がより好ましい。

なお、この屈折率については、別途図面を用いて後述する。

[0076] 前記透明基体部としては、前記検出溝が形成される面と反対の面が前記收容部の底部に接するか又は近接するように前記收容部内に配される。この面は、前記收容部の底部方向から照射される光の入射面とされることから平坦に形成されることが好ましい。

[0077] — 検出溝 —

前記検出溝は、前記透明基体部の一の面に形成され、前記前記プレート本

体の流路と連結して前記被検体液が導入される溝として形成される。また、この検出溝は、断面視で前記透明基体部の一の面に対して一つの勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有するように形成された溝部の内表面上に、電場増強層が配されて形成される。ここで、電場増強層とは、表面プラズモン共鳴の励起が可能な層状の構造で形成される層（表面プラズモン励起層）及び、光導波モードの励起が可能な層状の構造で形成される層を指す。電場増強層に関しては、別途後述する。

[0078] 前記検出溝の数としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、1つでもよいし、複数であってもよいが、前記検出溝は、前記目的物質を検出する検出面をなすことから、可能な限りその面積を増やし、前記目的物質の検出感度を向上させることが望ましく、したがって複数であることが好ましい。

この場合、1つの前記目的物質検出チップに対して複数の前記検出溝が並行して形成されることが好ましい。

[0079] ———溝部———

前記溝部の形成方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、前記溝部を有するように前記透明基体部を射出成型する方法、前記透明基体部に機械的な手段、例えば切削手段を用いて形成する方法などが挙げられる。

[0080] 前記溝部は、断面視で前記透明基体部の一の面に対して一の勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有する。

前記溝部の形状としては、前記傾斜面を少なくとも一部に有するものであれば、特に制限はなく、例えば、断面V字状、断面台形状、断面多角形状などの形状が挙げられる。ただし、前記傾斜面が曲面とされ、一の勾配をもって傾斜する部分を一切有しない断面U字状の形状や断面半円状の形状などは、含まない。前記傾斜面が曲面であると、前記電場増強層における表面プラズモン又は光導波モードの励起が限定的となり、十分に目的物質を検出することができない。

したがって、前記溝部を構成する溝側面には、前記一の勾配をもって傾斜する傾斜面が少なくとも一部に存在する必要がある。一方、こうした観点から、前記傾斜面としては、前記目的物質を検出する検出面に形成されていればよく、前記溝部の長さ方向の全体に亘って形成されている必要はない。

また、前記溝部の長さ方向の全体に亘って前記傾斜面が形成されている場合でも、当該傾斜面のすべてを検出に使用する必要はなく、その一部のみで光照射を行い、又はその一部でのみ目的物質の捕捉を行い、検出を行ってもよい。

前記溝部を構成する溝側面としては、このような傾斜面を有する限り特に制限はなく、左右対称に形成されていてもよいし、左右非対称に形成されていてもよい。

なお、これらの詳細については、別途、図面を用いて後述する。

[0081] 前記溝部を前記透明基体部の一の面上からみたときの開口幅、即ち、前記一の面における前記左右の溝部の側面の間隔としては、特に制限はないが、 $5\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{cm}$ が好ましい。前記開口幅が $5\ \mu\text{m}$ 未満であると、構造が微細なため、作製が困難となり、製造コストが高くなってしまい、また、溝部が小さいと、検出溝が狭くなり、粘性の高い液体は流れなくなってしまう。一方、前記開口幅が $5\ \text{cm}$ を超えると、検出溝の内容積もそれにつれて大きくなるため、多くの被検体液が必要となってしまう。

また、前記溝部の深さとしては、特に制限はないが、上記と同じ理由で、 $5\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{cm}$ が好ましい。

また、前記検出溝を複数配する場合、即ち、前記溝部を複数形成する場合、隣接する溝部の間隔としては、特に制限はないが、 $5\ \mu\text{m}$ ～ $5\ \text{cm}$ が好ましい。前記間隔が $5\ \mu\text{m}$ 未満であると、構造が微細なため、作製が困難となり、製造コストが高くなってしまう。前記間隔が $5\ \text{cm}$ を超えると、前記目的物質検出チップ自体が大きくなってしまい、作製時に材料を多く必要とする、保管時にスペースを取ってしまう、などの不都合が生じることがある。

また、この溝部間の間隔をなす部位では、光照射手段から照射される光が

、光検出手段側に直接抜けてしまうことになるため、これらの部位には光を減衰させる遮光部を設けることが好ましい。

[0082] ———電場増強層———

前記電場増強層としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、(A) 前記溝部上に表面プラズモン共鳴を発現する表面プラズモン励起層を配することで形成することができ、また、(B) 前記溝部上に光導波モードを励起する層構造を配することで形成することができる。ここで、前記光導波モードを励起する層構造は、金属材料又は半導体材料で形成される薄膜層と透明材料で形成される光導波路層とをこの順で前記溝部上に配することで形成することができる。

[0083] (A) 前記表面プラズモン励起層の形成材料としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、入射する光の波長において負の誘電率を有する金属材料が挙げられるが、金、銀、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含む金属材料が好ましい。

この金属材料で形成される金属層は、プリズムを介してある入射角度で光を受けると、表面側に染み出したエバネセント波が表面プラズモンの励起条件を満たし、前記金属層の表面に前記表面プラズモン共鳴を発現させる。

前記金属層の厚みとしては、金属材料及び入射する光の波長によってその最適値が決定されるが、この値はフレネルの式を用いた計算から算出が可能であることが知られている。一般的に、近紫外域から近赤外域で表面プラズモンを励起する場合、前記金属層の厚さは数 nm～数十 nm となる。

[0084] 前記表面プラズモン励起層、即ち、前記金属層の形成方法としては、特に制限はなく、蒸着法、スパッタリング法、CVD法、PVD法、スピコート法等の公知の形成方法が挙げられるが、前記溝部が形成される前記透明基体部の形成材料が前記プラスチック材料や前記ガラス材料である場合、前記金属層を直接前記溝部上に形成すると、密着性が低く、簡単にはがれてしまうことがある。

そのため、密着性を向上させる観点から、前記溝部の内表面上にニッケル

やクロムを形成材料とする接着層を形成し、この接着層上に前記金属層を形成することが好ましい。

[0085] 後述する目的物質又は該目的物質を標識化する蛍光物質からの発光を検出する際、前記目的物質又は前記蛍光物質が、前記金属層に近接すると、発光した光が再度前記金属層に吸収され、発光効率が低下するクエンチングと呼ばれる現象が起こる。

この場合、前記目的物質及び前記蛍光物質を前記金属層の表面から離す目的で、厚みが数 nm から数十 nm 程度の被覆層を形成するとクエンチングが抑制され、発光効率の低下を抑えられることが知られている。

こうしたことから、前記表面プラズモン励起層、即ち、前記金属層の表面が透明誘電体で被覆されることが好ましい。

前記透明誘電体としては、特に制限はなく、シリカガラス等のガラス材料、有機高分子材料、ウシ血清アルブミン等のたんぱく質など、厚さ数 nm から数十 nm の透明膜を形成可能な材料等が挙げられる。

[0086] (B) 前記光導波モードを励起する層構造の形成において、前記薄膜層を形成する前記金属材料としては、特に制限はなく、例えば、一般に入手が可能で、安定な金属及びその合金などが挙げられるが、金、銀、銅、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含むことが好ましい。

前記薄膜層を形成する半導体材料としては、特に制限はなく、例えば、シリコン、ゲルマニウム等の半導体材料又は既知の化合物半導体材料が挙げられるが、特にシリコンは安価で加工が容易であるため好ましい。

前記薄膜層の厚みとしては、前記表面プラズモン励起層の金属層と同様で、前記薄膜層の材料及び入射する光の波長によってその最適値が決定されるが、この値はフレネルの式を用いた計算から算出が可能であることが知られている。一般的に、近紫外域から近赤外域の波長帯の光を使用する場合、前記薄膜層の厚さは数 nm ～数百 nm となる。

なお、前記薄膜層として前記金属材料を選択する場合、密着性を向上させるために、前記溝部と前記薄膜層との間に、前述したクロムやニッケルの接

着層を配することが好ましい。

[0087] また、前記光導波路層の形成材料としては、光透過性の高い透明材料であれば特に制限はなく、例えば、酸化シリコン、窒化シリコン、アクリル樹脂等の樹脂材料、酸化チタン等の金属酸化物、窒化アルミニウム等の金属窒化物などが挙げられるが、作製が容易で、化学的安定性が高い酸化シリコンが好ましい。この場合、前記薄膜層を前記シリコンで形成すれば、前記シリコンの層の表面側を酸化させることで、簡便に形成することができる。

[0088] ー表面処理ー

前記目的物質を選択的に検出する場合、特に制限はないが、前記検出溝の表面、即ち、検出面に前記目的物質を特異的に捕捉するための表面処理が施されることが好ましい。

前記表面処理の方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、前記表面プラズモン励起層としての前記金属層に貴金属を用いて前記検出面とする場合には、金属-チオール結合を用いて捕捉物質を前記検出面に固定化させる化学修飾方法などが挙げられ、また、前記金属層を被覆する前記透明誘電体としてシリカガラスなどのガラス材料を用い、このガラス被覆層を前記検出面とする場合には、シランカップリングを用いて前記検出面に捕捉物質を固定化させる化学修飾方法などが挙げられる。

また、前記光導波路層の表面を前記検出面とする場合の表面処理方法としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができるが、例えば、前記光導波路層として酸化シリコンを用い、その表面を前記検出面とする場合には、前記ガラス被覆層と同様、シランカップリングにて前記検出面に捕捉物質を固定化させる化学修飾方法などが挙げられる。

[0089] ここで前記目的物質検出プレートの一実施形態を図15及び図16を用いて説明する。

図15に示すように、目的物質検出プレート101のプレート本体102は、円板状に形成され、図示しないスピンドルなどの回動手段により、図中

矢印A方向に回動可能とされる。

プレート本体102には、その拡大部に示すように、流路103と、収容部104と、被検体液を溜めておくための被検体液貯留部105が形成され、その回動によって、被検体液貯留部105から流路103を経由して収容部104に被検体液が導入される。104'及び105'は廃液を溜めておくための廃液貯留部である。

また、収容部104には、目的物質検出チップ108が収容され、被検体液中に存在する目的物質を検出する。即ち、図16に示すように、収容部104は、凹状に形成され、その内部に目的物質検出チップ108が収容される。この収容部104では、その側面においてプレート本体102の流路103と連結され、被検体液を目的物質検出チップ108に送液可能とされている。なお、図中の符号109は、収容部104から被検体液がこぼれることを防止する目的で配される蓋部である。

[0090] 収容部104内に目的物質検出チップ108が収容された様子を図17(a)、(b)を用いて説明する。図17(a)は、図16のA-A線断面に相当する図である。また、図17(b)は、図16のB-B線断面に相当する図である。

これらの図に示すように、目的物質検出チップ108は、収容部104内に収容される。プレート本体102の流路103から送液される被検体液は、目的物質検出チップ108の流路、即ち検出溝106に導入される。プレート本体102の外部に設置された光源110から、透明基体部107の検出溝106が形成された面と反対側の面側から光Lが照射され、検出溝106に光が入射される。検出溝106に光が照射されると、検出溝106に配される電場増強層により電場が増強され、目的物質又は目的物質を標識化する蛍光物質からの蛍光を観察することができる。目的物質の検出は、検出溝106上に被検体液が導入された状態で行っても良いが、被検体液を導入後、被検体液中に含まれる目的物質を検出面に固定化した捕捉物質で捕捉後、洗浄液を収容部4に導入して不純物や夾雑物を洗浄した後に行うと、不純物

や夾雑物による信号を除去でき好ましい。

ここで、プレート本体102において被検体液を収容部104へ供給する側の流路103から供給された被検体液は、目的物質検出チップ108の検出溝106に沿って流れた後、廃液貯留部105'へと繋がる流路103へ排出されるように、収容部104内に目的物質検出チップ108が配置されることが好ましい。このことを実現するには、収容部104への被検体液供給口、つまり被検体液を収容部104へ供給する側の流路103と収容部104との接合部と、収容部104から被検体液を排出する排出口、つまり収容部104から廃液を排出する流路103と収容部104との接合部とを結ぶ直線と、検出溝106とが平行に配置されているか、平行状態からのずれが角度換算で $\pm 45^\circ$ 以内であることが好ましい。このように流路103と検出溝106とが連結されると、流路103から検出溝106に対して被検体液を効率的に導入することができる。また、検出溝106内に洗浄液を導入させ易くなり、検出溝106内に残留する被検体液を容易に洗浄することができる。なお、図17(a), (b)に示す例では、収容部104への被検体液供給口と収容部104から被検体液を排出する排出口とを結ぶ直線と検出溝106とは平行に配置されている。

[0091] このように構成される目的物質検出プレート101では、流路103と収容部104で構成される検出構造が複数形成されるため、各収容部内に配される目的物質検出チップにより、目的物質を効率的に検出することができる。また、この検出構造ごとに異なる目的物質を検出させることもでき、1回の作業で複数の目的物質の検出を行うことができ、効率的な検出試験を実施することができる。更に、目的物質検出チップ108の検出溝106が、収容部104内で被検体液の流路及び目的物質の検出面のそれぞれの役割を担うように構成されるため、流路と検出面とを別個に製造する必要がなく、生産コストを低減させることができる。

[0092] 前記目的物質検出プレートの他の実施形態を図18(a), (b)を用いて説明する。

図18(a)に示すように、目的物質検出プレート1100は、円板状のプレート本体1102からなり、プレート本体1102は、目的物質検出チップ1108を収容する収容部1104と、被検体液を貯留する被検体液貯留部1105と、被検体液を洗浄する洗浄液を貯留する洗浄液貯留部1106と、被検体液及び洗浄液からなる廃液を貯留する廃液貯留部1107と、収容部1104と被検体液貯留部1105を接続する流路1103aと、収容部1104と洗浄液貯留部1106を接続する流路1103bと、収容部1104と廃液貯留部1107を接続する流路1103cとを有する。なお、プレート本体1102の円心部分は、切り抜かれ、市販のCDのような形状とされている。

被検体液貯留部1105及び洗浄液貯留部1106は、プレート本体1102の円心に対して、収容部1104より近い位置に配され、廃液貯留部1107は、収容部1104より遠い位置に配される。

図18(b)に、収容部1104、被検体液貯留部1105、洗浄液貯留部1106、廃液貯留部1107及び流路1103a~1103cで構成される1つの検出ユニットを拡大して示す。

収容部1104に収容される目的物質検出チップ1108は、1つの検出溝1109を有する。この検出溝1109に対して流路1103a, 1103bは、略Y字状に形成される。この時、収容部1104と流路1103a、1103bの接合部と、収容部1104と流路1103cの接合部とを結ぶ直線と検出溝1109は、平行から±22.5°ずれた形で配置されている。これ以外の構成については、目的物質検出プレート101の構成に準じて適宜構成される。

[0093] このような目的物質検出プレート1100によれば、プレート本体1102を回転させると、遠心力により、被検体液貯留部1105に貯留された被検体液を収容部1104に送液させることができ、洗浄液貯留部1106に貯留された洗浄液を収容部1104に送液させることができ、また、収容部1104に送液された被検体液及び洗浄液を廃液貯留部1107に送液させ

ることができる。また、目的物質検出チップ1108の検出溝1109に対して、被検体液及び洗浄液を導入させ易く、検出試験及び洗浄を効率的に行うことができる。

なお、図中では、目的物質検出チップ1108上に検出溝1109が1本形成されている例を示したが、1つの目的物質検出チップ1108上に検出溝1109は、複数本形成されていてもよい。また、図18(a)に示すように、收容部1104、被検体液貯留部1105、洗浄液貯留部1106、廃液貯留部1107、目的物質検出チップ1108及び流路1103a~1103cで構成される1つの検出ユニットをプレート本体1102上に複数ユニット形成すると、同時に複数の検出試験を実施することが可能となり好ましい。

[0094] 次に、前記目的物質検出チップの実施形態の例を図面を用いて説明する。

図19(a)に示す本発明の一実施形態に係る目的物質検出チップ111は、透明基体部112の一の面に断面V字状の溝からなる検出溝113が形成されて構成される。また、検出溝113は、その断面を説明する図19(b)に示すように、断面V字状に形成された溝部の内表面上に、電場増強層114が配されて形成される。検出溝113内には、目的物質の存在を検証する被検体液が導入され、その最表面、ここでは電場増強層114の表面が前記目的物質の検出面とされる。

電場増強層114では、図示しない光照射手段から照射される光により、表面プラズモン共鳴又は光導波モードが励起され、層内及び層表面付近に強い電場が形成される。前記光照射手段では、透明基体部112の検出溝113が形成される面と反対の面である面R側から光を照射する。

[0095] このとき、図19(b)の解説図として示す図19(c)のように、透明基体部112は、点線で示す三角形プリズムとして機能する領域を有し、面R側から照射される光Lを特定の入射角度で電場増強層114に入射させる。即ち、透明基体部112は、SPRセンサー及び光導波モードセンサーにおける光学プリズムとして機能し、電場増強層114の表面近傍での電場を

増強させて、この現象に由来する目的物質の検出を可能とする。なお、面Rは、プリズムの入射面として機能することから、平坦性が高いことが好ましい。

[0096] 図19(c)に示す検出溝113の溝部における底角 $\phi$ は、該溝部を形成する傾斜面に対する光Lの入射角度 $\theta$ によって決定される。例えば、この図19(c)に示す目的物質検出チップ111の例では、透明基体部112の検出溝113が形成される面とその反対の面である面Rとが平行で、溝部を形成する2つの傾斜面が左右対称で、前記光照射手段から光Lを面Rに対して垂直に入射させる場合としている。この場合の底角 $\phi$ ( $^{\circ}$ )は、 $(90^{\circ} - \theta) \times 2$ となる角度で選択される。

入射角度 $\theta$ は、表面プラズモン共鳴及び光導波モードの励起条件によって決定されることから、底角 $\phi$ は、透明基体部112の形成材料の屈折率及び電場増強層114の構成に依存する。

ここで、透明基体部112の屈折率が低すぎると、入射角度 $\theta$ を大きくする必要があり、ひいては底角 $\phi$ を小さくする必要が生ずる。検出溝113の開口幅が数100 $\mu\text{m}$ 以下のマイクロ流路の場合、底角 $\phi$ が $30^{\circ}$ 以下である場合には、検出溝113の形成が難しくなることから、透明基体部112の屈折率としては、1.38以上が好ましく、1.42以上がより好ましい。一方、加工の難易度が特に問題とならない大きさの検出溝の場合、透明基体部112の屈折率はさらに低くて良いが、少なくとも水の屈折率1.33より高いことが好ましい。

一方、透明基体部112の屈折率が高すぎると、光Lを面Rに入射した際、面Rでの反射が強くなってしまい、という問題点がある。また、屈折率が高くなお且つ透明性も高い材料は候補が限られてしまう。よって、透明基体部112の屈折率としては、4以下が好ましく、3以下がより好ましい。

[0097] この例では、図19(a), (b)に示すように、目的物質検出チップ111には、検出溝113が並行して形成される。このように形成することで、検出溝が1つの場合よりも検出面の表面積を多くとることができ、目的物

質の検出感度を向上させることができる。

また、隣接する検出溝の溝部間には、前述のように間隔 1 1 5 があってよい。このような間隔 1 1 5 を有するように形成される溝部は、透明基体部 1 1 2 を射出成型する際、この溝形状を形成するスタンプの溝部、即ち、間隔 1 1 5 に対向する部分を鋭角に作成する必要がなくなり、生産コストの低減を図ることができる。

また、前述のように間隔 1 1 5 には光を減衰させる遮光部を設けることが好ましい。

[0098] 図 20 に、目的物質検出チップの他の実施形態を示す。この目的物質検出チップ 1 2 1 は、透明基体部 1 2 2 と、複数の検出溝 1 2 3 を有する。検出溝 1 2 3 の形状は、断面視で台形状とされる。このような目的物質検出チップによれば、断面が V 字状の溝と比して、溝の底部が鋭角でなく、平坦に形成されるため、検出試験終了後に洗浄を行う際、溝の底部に洗浄液が流れ込み易く、効率的に洗浄を行うことができ、好ましい。但し、このような平面部には、間隔 1 1 5 と同様に、光を減衰させる遮光部を設け、光検出器側に光照射手段からの光がなるべく到達しないようにすることが好ましい。

[0099] 前記検出溝は、該溝を構成する 2 つの傾斜面が、左右対称でなくともよい。

例えば、図 21 に示すように、前記 2 つの傾斜面が異なる勾配を有するように検出溝 1 3 3 を形成してもよい。この場合、それぞれの傾斜面で異なる発光特性が得られるため、2 つの異なる検出を同時に実施可能である。

例えば、左右の面で、それぞれ異なる波長で電場増強が生じるように設定しておく。例えば、左側の面では、550 nm の光によって表面プラズモンが励起されるように設定し、右側の面では、660 nm の光で表面プラズモンが励起されるように設定する。左側の面では、550 nm の励起光で発光する蛍光色素が特異的に吸着されるような検体の測定を実施し、右側の面では、660 nm の励起光で発光する蛍光色素が特異的に吸着されるような検体の測定を実施する。光源には、550 nm の励起光と、660 nm の励起

光とをそれぞれ備え、交互に照射するか、交互にフィルタなどで遮光することによって、それぞれの励起光による信号を左右それぞれの面から検出できるため2つの検体を同時に検出することが可能となる。なお、図21中、符号131は、目的物質検出チップを示し、符号132は、透明基体部を示す。

[0100] また、前記2つの傾斜面は、多段の勾配をもって形成されていてもよい。例えば、図22に示すように、前記2つの傾斜面が多段の勾配を有するように検出溝143を形成してもよい。この場合、勾配ごとに異なる励起波長による検出を同時に実施することが可能となる。なお、図22中、符号141は、目的物質検出チップを示し、符号142は、透明基体部を示す。

[0101] また、蛍光を片方の傾斜面でのみ検出する場合は、検出に使用しない側の面の成す角度は、検出に特に影響を与えないことから、どのような形状を取っていても良く、例えば図23に示したように検出溝153の検出に使用しない側の面を垂直に形成してもよい。なお、図23中、符号151は、目的物質検出チップを示し、符号152は、透明基体部を示す。

[0102] <光照射手段>

前記光照射手段は、前記目的物質検出チップの前記検出溝が形成される面と反対の面側から前記電場増強層に光を照射する手段である。

前記第2の実施形態における前記光照射手段は、前記第1の実施形態について説明した前記光照射手段と略同等の構成とすることができる。

即ち、前記光照射手段の構成としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、レーザー、白色ランプ、LEDなどの光源、前記光源からの光をコリメートするコリメータ、前記光源からの光を集光するレンズ、前記光源からの光を偏光する偏光板など、公知の光学部材から適宜選択して構成することができる。

中でも、前記光源から発せられる光を直線偏光に偏光する偏光板を有して構成されることが好ましい。

[0103] <光検出手段>

前記光検出手段は、前記光照射手段から照射される光により、前記検出溝内に存在する前記被検体液中の前記目的物質又は前記目的物質を標識化する前記蛍光物質から発せられる蛍光を検出する手段として構成される。

[0104] 前記第2の実施形態における前記光検出手段は、前記第1の実施形態について説明した前記光検出手段と略同等の構成とすることができる。

即ち、前記光検出手段の構成としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、前記蛍光を検出するCCD、フォトダイオード、光電子増倍管などの光検出器、前記蛍光を前記光検出器に導く光ファイバ、前記蛍光を集光して前記光検出器に導く集光レンズなど、公知の光学部材から適宜選択して構成することができる。

また、検出される光が前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光に由来するものであるのか、それ以外の光によるものなのかを区別するために、前記蛍光波長帯の光のみを透過する波長フィルタを介して前記光検出器による検出を行ってもよい。

[0105] <その他の部材>

前記その他の部材としては、特に制限はなく、目的に応じて適宜選択することができ、例えば、送液ポンプなどが挙げられる。前記送液ポンプとしては、前記流路に前記被検体液を送液するポンプなどが挙げられる。

[0106] 前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光を検出する前記目的物質検出装置の構成例を図24に示す。ここでは、目的物質検出チップ161と、光Lを目的物質検出チップ161の面R側から照射する光照射手段（不図示）と、前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光kを蛍光kの波長帯域の光のみを透過する波長フィルタ168を介して検出する光検出器167とを有する。また、目的物質検出チップ161は、透明基体部162と、その一の面に形成される検出溝163を有する。

[0107] 照射する光Lとしては、前記目的物質又は前記蛍光色素の励起帯の波長に対応するレーザー光か、光フィルタや分光器などで単色化した光を用いる。

このとき、前記光照射手段を目的物質検出チップ161の面R側で半円を

描くように周回させるか、又は目的物質検出チップ161の方を固定された前記光照射手段の周りで周回させて、光Lの入射角度を変え、検出溝163の前記電場増強層に光Lを照射すると、表面プラズモン共鳴又は光導波モードが励起される特定の角度において、発光強度が増大する現象が観測でき、観測している発光が表面プラズモン共鳴又は光導波モードによって生じたものか、表面プラズモン共鳴又は光導波モードの励起に関与しない光Lの迷光が前記蛍光物質に照射され、前記目的物質の検出とは無関係に発光したものを確認することができる。

[0108] ただ、入射角度の変更機構や目的物質検出チップ161を周回させる回転機構は、可動部を必要とするため、検出装置そのものが大型化するデメリットがある。装置を小型且つ安価に構成するには、入射角度を一定の角度に固定した状態で発光強度を観測し、目的物質を検出する手法が好ましい。

[0109] 前記目的物質自体が蛍光kを発する場合、検出溝163の検出面で前記目的物質を捕捉し、前記目的物質の発光の有無及び発光強度を観測することによって、前記目的物質の有無及び量が観測できる。

しかし、多くの物質は、強い発光特性を示さないので、検出溝163の検出面で捕捉した後、前記蛍光物質を前記目的物質に付着させて発光を観測する。

前記蛍光物質を付着させる方法に関しては、特に制限はなく、公知の手法を適用することができ、例えば、前記目的物質に特異的に吸着する抗体に前記蛍光物質を結合させておき、この蛍光物質付きの抗体を前記目的物質に吸着させる方法が挙げられる。

[0110] (目的物質検出方法)

本発明の目的物質検出方法の他のひとつは、本発明の前記第2の実施形態に係る前記目的物質検出装置を用いて前記目的物質を検出する方法であって、被検体液導入工程と、光照射工程と、光検出工程とを含む。

[0111] 前記被検体液導入工程は、前記目的物質検出プレートの前記流路内に前記被検体液を送液し、前記目的物質検出チップの前記検出溝内に前記被検体液を

導入する工程である。

前記光照射工程は、前記目的物質検出チップの検出溝が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する工程である。

前記光検出工程は、前記光照射工程で実施される前記光の照射に基づき、前記検出溝内に存在する前記被検体液中の前記目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する工程である。

これらの工程は、前記目的物質検出装置で説明した事項により適宜実施することができる。

## 実施例

### [0112] (実施例 1)

先ず、本発明の前記第 1 の実施形態に基づく実施例について説明する。

本発明の実施例として、図 25 に示す目的物質検出装置 70 を製造した。

該目的物質検出装置 70 は、目的物質検出チップ 71 と、光 L を目的物質検出チップ 71 の面 R 側から照射する光照射手段（不図示）と、前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出器 77 とを有する。

### [0113] 目的物質検出チップ 71 は、次のように製造した。

先ず、ポリスチレンを形成材料とし、射出成型により断面 V 字状の溝部が形成された板状の透明基体部 72 を作製した。前記溝部を構成する 2 つの傾斜面は、左右対称とし、その底角  $\phi$  は、 $49^\circ$  とした。また、前記溝部の開口幅は、 $300\ \mu\text{m}$  とした。溝部の被検体液が流れる方向の長さは  $35\ \text{mm}$  とし、溝部の両端部には直径  $1\ \text{mm}$  の貫通孔（不図示）を形成した。

次いで、この透明基体部 72 の前記溝部が形成された面に対して、該溝部が形成されていない平坦領域に対して垂直方向から、この平坦領域において厚みが  $0.6\ \text{nm}$  となるようにクロムを蒸着させ、前記溝部が形成された面全体に接着層としてのクロム薄膜 74 a を形成した。

次いで、前記平坦領域において厚みが  $100\ \text{nm}$  となるように金を蒸着させ、クロム薄膜 74 a 上に表面プラズモン励起層としての金薄膜 74 b を形

成した。

次いで、前記平坦領域において厚みが49 nmとなるようにスパッタリング法によりシリカガラス薄膜を堆積させ、金薄膜74 bの表面を透明誘電体74 cで被覆した。

これにより、透明基体部72に流路73を形成した。またこの時、透明基体部72の流路73の開口部以外の上面に積層されたクロム薄膜74 aと金薄膜74 bは遮光部として働く。

次いで、ポリメチルメタクリレートを主成分とするカバーフィルムを蓋部76として用い、流路73の開口部分をシーリングした。以上により、目的物質検出チップ71を製造した。

[0114] 一方の貫通孔から水を注入して流路73内を水で満たした後、この目的物質検出チップ71に対し、図25に示すように、目的物質検出装置70の前記光照射手段から光を照射し、目的物質検出チップ71の面R側から該面Rに対して垂直な方向から光を直径約1 mmのビーム径で入射させた。前記光照射手段は、白色光源と、該白色光源から発せられる光をp偏光に直線偏光させる偏光板とで構成し、また、前記白色光源と、該白色光源から発せられる光をs偏光に直線偏光させる偏光板とで構成し、2通りに構成した。

前記2通りの光照射手段により目的物質検出チップ71のR面側から照射された白色光の透過光を、該目的物質検出チップ71の流路73が形成された面に対向配置した光検出器77にて測定した。図26にその結果を示す。

該図26は、透過光強度の波長依存性を示しており、s偏光の場合に比べ、p偏光の場合には、570 nm~870 nmの波長領域において、明確な透過光強度の増加が確認できる。s偏光の場合には表面プラズモンが励起され得ないことを考慮すれば、この現象は、p偏光された入射光により、前記波長領域において表面プラズモンが励起され、その結果、前記入射光が強く散乱されて生じたものと考えられる。

このように、目的物質検出装置70を用いれば、従来のように、プリズムと検出チップとの煩雑な貼り合せ工程を経ることなく、目的物質検出チップ

71で容易に表面プラズモンを励起することが可能であり、また、この表面プラズモンの励起により、蛍光物質からの蛍光も容易に増強することができる。

[0115] (実施例2)

実施例1と同様に先ず、ポリスチレンを形成材料とし、射出成型により断面V字状の溝部が形成された板状の透明基体部72を作製した。前記溝部の構造は、実施例1と同じである。この透明基体部72の前記溝部が形成された面に対して、該溝部が形成されていない平坦領域に対して垂直方向から、この平坦領域において厚みが0.6nmとなるようにクロムを蒸着させ、接着層としてのクロム薄膜74aを形成した。次いで、このクロム層上に、前記平坦領域において厚みが120nmとなるように金を蒸着させて表面プラズモン励起層としての金薄膜74bを形成した。次いで、この金の層上に、前記平坦領域において厚みが49nmとなるようにスパッタリング法によりシリカガラス薄膜(透明誘電体74c)を堆積させた。これにより、透明基体部72に流路73を形成した。

その後、この薄膜を堆積した透明基体を弱アルカリ水溶液に24時間浸漬後乾燥した後、0.1v/v%3-アミノプロピルトリエトキシシランのエタノール溶液に15時間浸漬し、シリカガラス表面に反応活性なアミノ基を修飾した。その後、透明基体をエタノールでリンスし乾燥後、0.5mMのスルホスクシンイミジル-N-(D-ビオチニル)-6-アミノヘキサネートを含むリン酸緩衝生理食塩水を流路73上に滴下して2時間室温で放置し、流路表面に目的物質を捕捉する物質としてビオチンを導入した。以上のプロセスの後に、ポリメチルメタクリレートの主成分とするカバーフィルムを蓋部76として用い、流路73の開口部分をシーリングした。以上により、目的物質検出チップ71を製造した。

被検出液としては、蛍光色素Alexa700(Invitrogen社製)が付いたストレプトアビジンを目的物質として100nM含むリン酸緩衝生理食塩水を用いた。この被検出液を貫通孔より流路73に注入し、流路

中を被検出液で満たした後、該貫通孔部分をテープで封止し、ビオチンによるストレプトアビジンの捕捉のために1時間室温で放置した。

その後、貫通孔部分の封止を解き、不純物等を洗浄するために、0.05 v/v%のトリトンX-100（ナカライテスク社製）を含むリン酸緩衝生理食塩水で5回流路を洗浄した後、流路73をリン酸緩衝生理食塩水で満たした。

以上のプロセスを経た目的物質検出チップ71に、コリメータレンズと偏光板を備えた波長680nm±10nmの光を発する光フィルタ付きLEDを光照射手段として直径約1cmの光Lを照射した。また、光検出器77として冷却CCDカメラを用い、このCCDカメラの前に、波長710nm以上の光を透過する光フィルタと波長720nm以上の光を透過する光フィルタを設置して、光検出手段を構成した。露光時間は60秒間とした。

光照射手段よりp偏光を照射したところ、図27に示す写真中の白線として見られる、流路に沿って光るAlexa700からの蛍光を観測することができた。一方、光照射手段よりs偏光を照射したところ、Alexa700からの蛍光は観測されなかった。表面プラズモンはp偏光の光の照射によってのみ励起されることから、観測結果は、流路73内の検出面における表面プラズモン励起層による表面プラズモンの励起によって蛍光色素からの蛍光が増強され、高感度で検体が検出できたことを示す。

[0116] (実施例3)

次に、本発明の前記目的物質検出プレートに関する前記第2の実施形態に基づく実施例について説明する。

本発明の前記第2の実施形態の有効性を確認するため、目的物質検出チップ171と、光Lを検出チップ171の面R側から照射する光照射手段（不図示）と、前記目的物質又は前記蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出器177とを有する試作機を作製した（図28参照）。

[0117] ここで、目的物質検出チップ171は、次のように製造した。

先ず、ポリスチレンを形成材料とし、射出成型により断面V字状の溝部が

形成された板状の透明基体部172を作製した。前記溝部を構成する2つの傾斜面は、左右対称とし、その底角 $\phi$ は、 $49^\circ$ とした。また、前記溝部の開口幅は、 $300\mu\text{m}$ とした。

次いで、この透明基体部172の前記溝部が形成された面に対して、該溝部が形成されていない平坦領域に対して垂直方向から、この平坦領域において厚みが $0.6\text{nm}$ となるようにクロムを蒸着させ、前記溝部が形成された面全体に接着層としてのクロム薄膜174aを形成した。

次いで、前記平坦領域において厚みが $100\text{nm}$ となるように金を蒸着させ、クロム薄膜174a上に表面プラズモン励起層としての金薄膜174bを形成した。

次いで、前記平坦領域において厚みが $49\text{nm}$ となるようにスパッタリング法によりシリカガラス薄膜を堆積させ、金薄膜174bの表面を透明誘電体174cで被覆した。

これにより、透明基体部172に前記溝部の形状とほぼ同形の溝形状を有する検出溝173を形成した。またこの時、透明基体部172の検出溝173の開口部以外の上面に積層されたクロム薄膜174aと金薄膜174bは遮光部として働く。

以上により、目的物質検出チップ171を製造した。

[0118] この目的物質検出チップ171に対し、検出溝173を水で満たし、図28に示すように、前記光照射手段から光を照射し、目的物質検出チップ171の面R側から該面Rに対して垂直な方向から光を直径約 $1\text{mm}$ のビーム径で入射させた。前記光照射手段は、白色光源と、該白色光源から発せられる光をp偏光に直線偏光させる偏光板とで構成し、また、前記白色光源と、該白色光源から発せられる光をs偏光に直線偏光させる偏光板とで構成し、2通りに構成した。

前記2通りの光照射手段により目的物質検出チップ171のR面側から照射された白色光の透過光を、該目的物質検出チップ171の検出溝173が形成された面に対向配置した光検出器177にて測定した。図29にその結

果を示す。

該図 29 は、透過光強度の波長依存性を示しており、s 偏光の場合に比べ、p 偏光の場合には、570 nm～870 nm の波長領域において、明確な透過光強度の増加が確認できる。s 偏光の場合には表面プラズモンが励起され得ないことを考慮すれば、この現象は、p 偏光された入射光により、前記波長領域において表面プラズモンが励起され、その結果、前記入射光が強く散乱されて生じたものと考えられる。

このように、目的物質検出チップ 171 を用いれば、従来のように、プリズムと検出チップとの煩雑な貼り合せ工程を経ることなく、目的物質検出チップ 171 で容易に表面プラズモンを励起することが可能であり、また、この表面プラズモンの励起により、蛍光物質からの蛍光も容易に増強することができる。また、目的物質検出チップ 171 を収容する前記目的物質検出プレートを用いれば、効率的に前記目的物質の検出を行うことができる。

[0119] (実施例 4)

実施例 3 と同様に先ず、ポリスチレンを形成材料とし、射出成型により断面 V 字状の溝部が形成された板状の透明基体部 172 を作製した。前記溝部の構造は、実施例 3 と同じである。この透明基体部 172 の前記溝部が形成された面に対して、該溝部が形成されていない平坦領域に対して垂直方向から、この平坦領域において厚みが 0.6 nm となるようにクロムを蒸着させ、接着層としてのクロム薄膜層 174 a を形成した。次いで、このクロム層上に、前記平坦領域において厚みが 120 nm となるように金を蒸着させて表面プラズモン励起層としての金薄膜層 174 b を形成した。次いで、この金の層上に、前記平坦領域において厚みが 49 nm となるようにスパッタリング法によりシリカガラス薄膜（透明誘電体層 174 c）を堆積させた。これにより、透明基体部 172 に検出溝 173 を形成した。

その後、この薄膜を堆積した透明基体を弱アルカリ水溶液に 24 時間浸漬後乾燥した後、0.1 v/v% 3-アミノプロピルトリエトキシシランのエタノール溶液に 15 時間浸漬し、シリカガラス表面に反応活性なアミノ基を

修飾した。その後、透明基体をエタノールでリンスし乾燥後、0.5 mMのスルホスクシンイミジル-N-(D-ビオチニル)-6-アミノヘキサネートを含むリン酸緩衝生理食塩水を検出溝173上に滴下して2時間室温で放置し、検出溝表面に目的物質を捕捉する物質としてビオチンを導入した。以上により、目的物質検出チップ171を製造した。

[0120] 次いで、図18(a)に示す目的物質検出プレート1100を以下のように作製した。

プレート本体1102の形成母材として、COP(環状ポリオレフィン)基板を利用し、このCOP基板に対して、CADデザインに基づき直径0.01~4mmの切削工具を適宜交換しながら、NC(Numerical Control)加工機を用いて切削加工を行って、収容部1104、被検体液貯留部1105、洗浄液貯留部1106、廃液貯留部1107及び流路1103a~1103cを有するプレート本体1102を作製した。

収容部1104の形状は、直径5.2mm、深さ1.6mmの円柱状とした。

そこへ前述の目的物質検出チップ171(チップの板の厚さ1.5mm)を、NC加工機による加工により、直径5.2mmの円柱状に削り出して組み込んだ。

このとき、目的物質検出チップ171の裏面は、組み込みが容易になるように、エッジを落としてから収容部1104に組み込むようにした。

その後、すべての流路1103a~1103cを覆うように、プレート本体1102の全面を圧力感受性粘着透明シートによりシール(蓋)した。次いで、被検体液の注入目的ないしエアベント目的で、このシールの一部を、CO<sub>2</sub>レーザーマーカを用いて除去した。

その後、共焦点顕微鏡により、組み込んだ目的物質検出チップ171の境界面を観察したところ、プレート本体1102の表面(つまりシールの裏面)との隙間は、50μmであった。この隙間部分に、被検体液が導入され、検出溝173の内壁に吸着した目的物質についての蛍光ラベルが、電場増強効

果により強く発光することによって、目的物質を高感度で検出することが可能である。また、この隙間は、 $0\sim 200\ \mu\text{m}$ 程度と狭いことが好ましい。それは、この部分が薄層化されることによって抗原抗体反応が迅速化され、短い時間での検出が可能となるからである。

なお、被検体液貯留部1105から収容部1104への流路1103aは、幅 $500\ \mu\text{m}$ 、深さ $100\ \mu\text{m}$ とし、洗浄液貯留部1106から収容部1104への流路1103bは、幅 $200\ \mu\text{m}$ 、深さ $50\ \mu\text{m}$ とし、収容部1104から廃液貯留部1107への流路1103cは、幅 $30\ \mu\text{m}$ 、深さ $50\ \mu\text{m}$ とした。

被検出液としては、蛍光色素Alexa700 (Invitrogen社製) が付いたストレプトアビジンを目的物質として $100\ \text{nM}$ 含むリン酸緩衝生理食塩水を用いた。この被検出液を流路1103aを介して検出溝173に注入し、検出溝173を被検出液で満たした後、ビオチンによるストレプトアビジンの捕捉のために1時間室温で放置した。

その後、不純物等を洗浄するために、 $0.05\ \text{v}/\text{v}\%$ のトリトンX-100 (ナカライテスク社製) を含むリン酸緩衝生理食塩水を、1103bを介して検出溝173に注入し洗浄した後、検出溝173をリン酸緩衝生理食塩水で満たした。

以上のプロセスを経た目的物質検出プレート1100に、コリメータレンズと偏光板を備えた波長 $680\ \text{nm}\pm 10\ \text{nm}$ の光を発する光フィルタ付きLEDを光照射手段として光を照射した。また、光検出器177として冷却CCDカメラを用い、このCCDカメラの前に、波長 $710\ \text{nm}$ 以上の光を透過する光フィルタと波長 $720\ \text{nm}$ 以上の光を透過する光フィルタを設置して、光検出手段を構成した。露光時間は60秒間とした。

光照射手段よりp偏光を照射したところ、Alexa700からの蛍光を観測することができた。一方、光照射手段よりs偏光を照射したところ、Alexa700からの蛍光は観測されなかった。表面プラズモンはp偏光の光の照射によってのみ励起されることから、観測結果は、検出溝173内の

検出面における表面プラズモン励起層による表面プラズモンの励起によって蛍光色素からの蛍光が増強され、高感度で検体が検出できたことを示す。

### 符号の説明

- [0121] 1, 11, 21, 21', 31, 41, 51, 61, 71, 81  
 目的物質検出チップ  
 2, 12, 22, 22', 32, 42, 52, 62, 72, 82  
 透明基体部  
 3, 13, 23, 23', 33, 43, 53, 63, 73, 83  
 流路  
 4 電場増強層  
 15, 15' 貫通孔  
 16, 26, 26', 36, 46, 56, 66, 76, 86 蓋部  
 30, 60, 70 目的物質検出装置  
 37, 37', 67, 77, 206, 309, 405, 509 光  
 検出器  
 68 波長フィルタ  
 69 遮光部  
 74 a クロム薄膜  
 74 b 金薄膜  
 74 c 透明誘電体  
 201, 306, 401 a, 506 a 透明基板  
 401, 506 検出板  
 401 b, 506 b 薄膜層  
 401 c, 506 c 光導波路層  
 302 A, 302 B, 502 A, 502 B 光ファイバ  
 304, 503 コリメートレンズ  
 205, 305, 404, 504 偏光板  
 203, 303, 402, 505 光学プリズム

308, 507	集光レンズ
309A, 508	分光器
200, 300	SPRセンサー
202, 307	金属薄膜層
204, 301, 403, 501	光源
210A, 310A, 410A	入射光
210B, 310B, 410B	反射光
400, 500	光導波モードセンサー
R	面
L, L1, L2,	光
k	蛍光
$\theta$	入射角度
$\phi$	底角
101, 1100	目的物質検出プレート
102, 1102	プレート本体
103, 1103a, 1103b, 1103c	流路
104, 1104	収容部
105, 1105	被検体液貯留部
104', 105', 1107	廃液貯留部
106, 113, 123, 133, 143, 153, 163, 173 , 1109	検出溝
107, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172	透明基体部
108, 111, 121, 131, 141, 151, 161, 171 , 1108	目的物質検出チップ
109	蓋部
110	光源
114	電場増強層

- 1 1 5 間隔
- 1 6 7, 1 7 7 光検出器
- 1 6 8 波長フィルタ
- 1 7 4 a クロム薄膜
- 1 7 4 b 金薄膜
- 1 7 4 c 透明誘電体層
- 1 1 0 6 洗浄液貯留部
- A 方向

## 請求の範囲

- [請求項1] 光を透過する板状の透明基体部と、  
前記透明基体部の一の面に溝として形成され、前記溝の長さ方向に目的物質の存在を検証する被検体液が送液される流路と、を有し、  
前記流路は、断面視で前記一の面に対して一の勾配をもって傾斜する傾斜面を少なくとも一部に有するように形成された溝部の内表面上に、少なくとも電場増強層が配されて形成され、前記溝の前記被検体液と接する最表面の一部又は全部が前記目的物質の検出面とされることを特徴とする目的物質検出チップ。
- [請求項2] 透明基体部の流路が形成される面と反対の面が平坦に形成される請求項1に記載の目的物質検出チップ。
- [請求項3] 溝部を構成する左右の溝側面が左右対称に形成される請求項1から2のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項4] 電場増強層は、溝部上に表面プラズモン共鳴を発現する表面プラズモン励起層が配されて形成される請求項1から3のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項5] 表面プラズモン励起層の形成材料が金、銀、銅、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含む請求項4に記載の目的物質検出チップ。
- [請求項6] 表面プラズモン励起層の表面が透明誘電体で被覆される請求項4から5のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項7] 電場増強層は、溝部上に金属材料又は半導体材料で形成される薄膜層と透明材料で形成される光導波路層とがこの順で配されて形成される請求項1から3のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項8] 金属材料が金、銀、銅、プラチナ及びアルミニウムの少なくともいずれかを含む請求項7に記載の目的物質検出チップ。
- [請求項9] 半導体材料がシリコンである請求項7に記載の目的物質検出チップ。

- [請求項10] 光導波路層がシリカガラスで形成される請求項7から9のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項11] 検出面に目的物質を捕捉する表面処理が施される請求項1から10のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項12] 流路の開口部を塞ぐように、透明基体部の前記流路が形成される面上に蓋部が配される請求項1から11のいずれかに記載の目的物質検出チップ。
- [請求項13] 蓋部は、透明な樹脂材料又はガラス材料で形成される、シール材及び板材のいずれかで構成される請求項12に記載の目的物質検出チップ。
- [請求項14] 蓋部は、反射材及び反射層を持つシール材又は板材のいずれかで構成される請求項12に記載の目的物質検出チップ。
- [請求項15] 請求項1から14のいずれかに記載の目的物質検出チップと、  
前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射手段と、  
前記電場増強層から反射された光を検出する光検出手段と、  
を有することを特徴とする目的物質検出装置。
- [請求項16] 請求項1から14のいずれかに記載の目的物質検出チップと、  
前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射手段と、  
前記光の照射に基づき、前記流路内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出手段と、  
を有することを特徴とする目的物質検出装置。
- [請求項17] 光照射手段は、光源と、該光源から発せられる光を直線偏光に偏光する偏光板と、を有する請求項15から16のいずれかに記載の目的物質検出装置。
- [請求項18] 請求項15に記載の目的物質検出装置を用いて目的物質を検出する

目的物質検出方法であって、

目的物質検出チップの流路内に目的物質の存在を検証する被検体液を送液する被検体液送液工程と、

前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射工程と、

前記電場増強層から反射された光を検出する光検出工程と、  
を含むことを特徴とする目的物質検出方法。

[請求項19]

請求項16に記載の目的物質検出装置を用いて目的物質を検出する目的物質検出方法であって、

目的物質検出チップの流路内に目的物質の存在を検証する被検体液を送液する被検体液送液工程と、

前記目的物質検出チップの流路が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射工程と、

前記光の照射に基づき、前記流路内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出工程と、

を含むことを特徴とする目的物質検出方法。

[請求項20]

目的物質を検出する請求項1から11のいずれかに記載の目的物質検出チップを収容する1つ又は複数の凹状からなる収容部と前記収容部に前記目的物質の存在を検証する被検体液を送液する流路とが形成された透光性のプレート本体と、

前記収容部に収容される前記目的物質検出チップと、を有し、

前記目的物質検出チップは、その流路が前記プレート本体の前記流路と連結して前記被検体液が導入される検出溝とされることを特徴とする目的物質検出プレート。

[請求項21]

プレート本体が円板状の部材からなる請求項20に記載の目的物質検出プレート。

[請求項22]

プレート本体が円板状の部材からなり、その円心に対して、収容部

より近い位置に配される被検体液を貯留する被検体液貯留部及び洗浄液を貯留する洗浄液貯留部と、前記収容部より遠い位置に配される前記被検体液及び前記洗浄液からなる廃液を貯留する廃液貯留部と、を有し、

前記被検体液貯留部、前記洗浄液貯留部及び前記廃液貯留部のそれぞれが、前記被検体液、前記洗浄液及び前記廃液を送液する前記プレート本体の流路を介して前記収容部と接続される請求項20から21のいずれかに記載の目的物質検出プレート。

[請求項23] 検出溝の形状が、断面視で台形状である請求項20から22のいずれかに記載の目的物質検出プレート。

[請求項24] 検出溝の底面に遮光部が形成されている請求項23に記載の目的物質検出プレート。

[請求項25] 1つの目的物質検出チップに対して複数の検出溝が並行して形成される請求項20から24のいずれかに記載の目的物質検出プレート。

[請求項26] 隣接する検出溝の溝部間に間隔を有する請求項25に記載の目的物質検出プレート。

[請求項27] 溝部間の間隔をなす部位に遮光部が形成されている請求項26に記載の目的物質検出プレート。

[請求項28] 請求項20から27のいずれかに記載の目的物質検出プレートと、目的物質検出チップの検出溝が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射手段と、

前記光の照射に基づき、前記検出溝内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出手段と、

を有することを特徴とする目的物質検出装置。

[請求項29] 請求項28に記載の目的物質検出装置を用いて目的物質を検出する目的物質検出方法であって、

目的物質検出プレートのプレート本体の流路内に被検体液を送液し

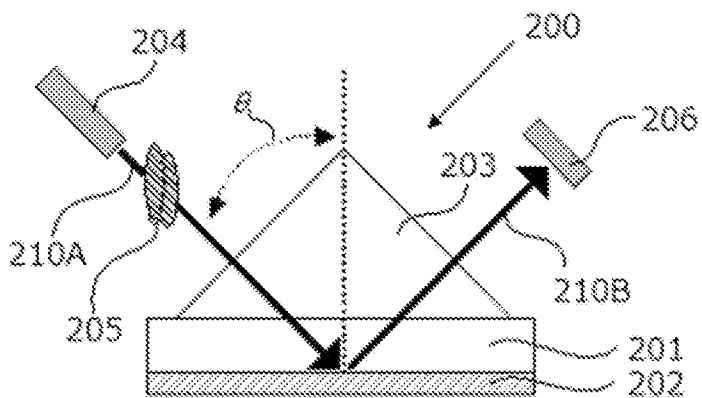
、目的物質検出チップの検出溝内に前記被検体液を導入する被検体液導入工程と、

前記目的物質検出チップの前記検出溝が形成される面と反対の面側から電場増強層に光を照射する光照射工程と、

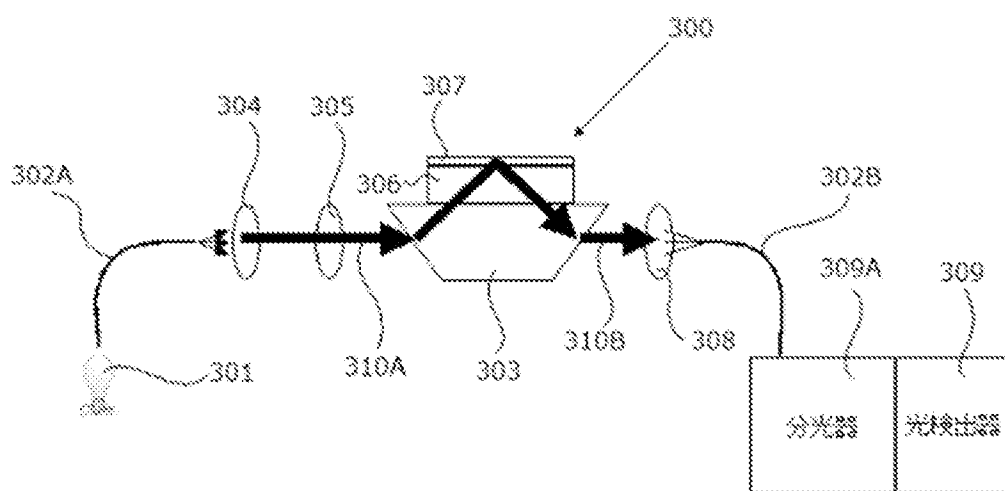
前記光の照射に基づき、前記検出溝内に存在する被検体液中の目的物質又は前記目的物質を標識化する蛍光物質から発せられる蛍光を検出する光検出工程と、

を含むことを特徴とする目的物質検出方法。

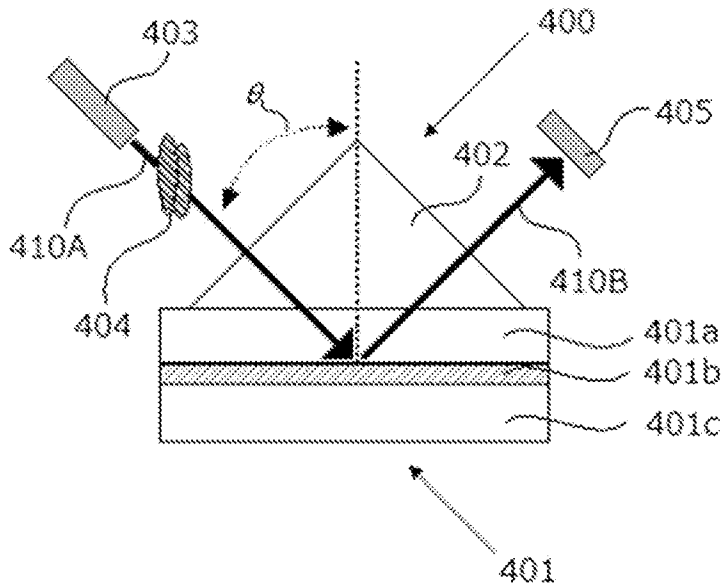
[図1]



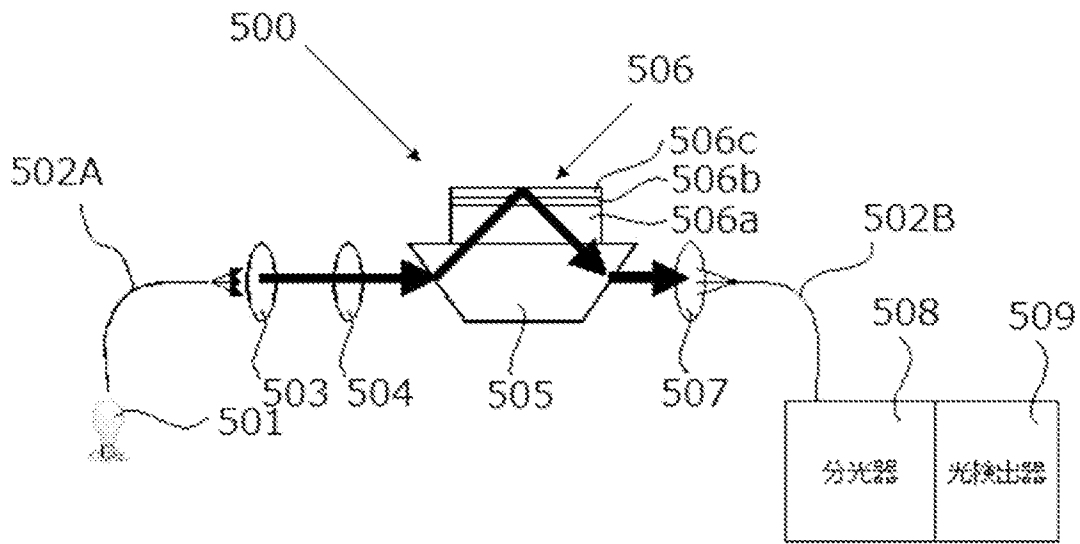
[図2]



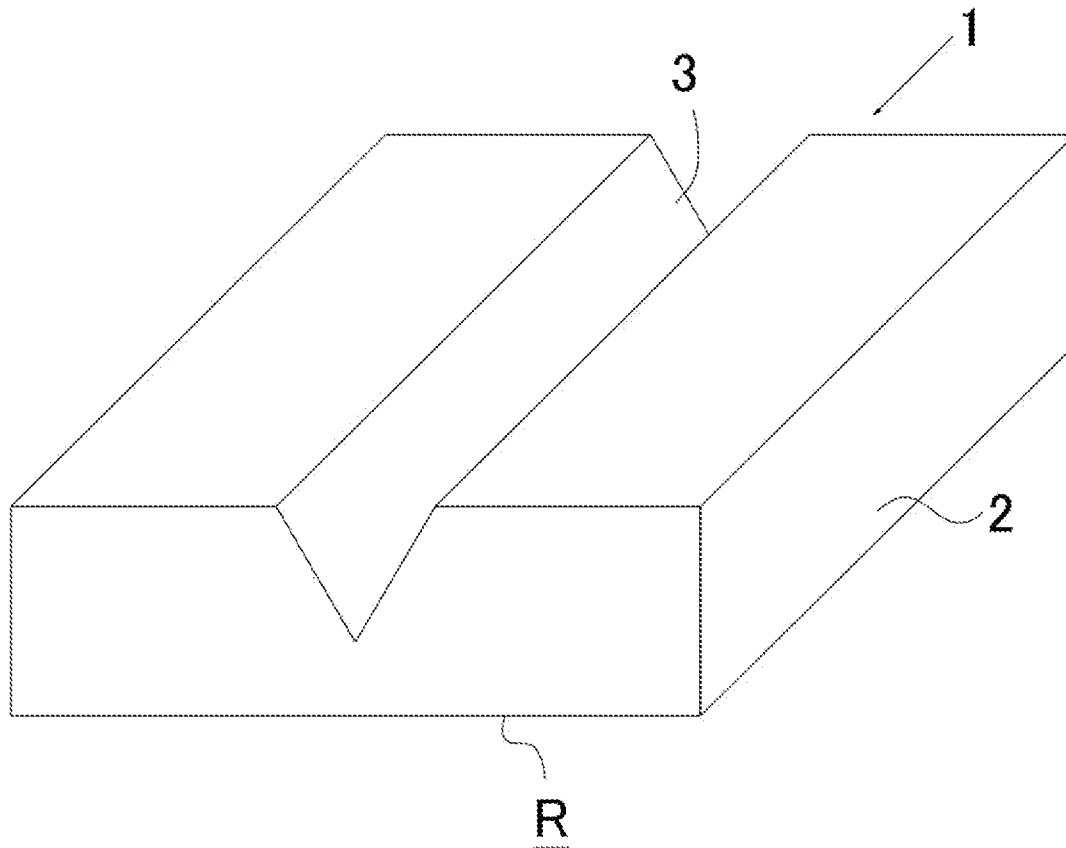
[図3]



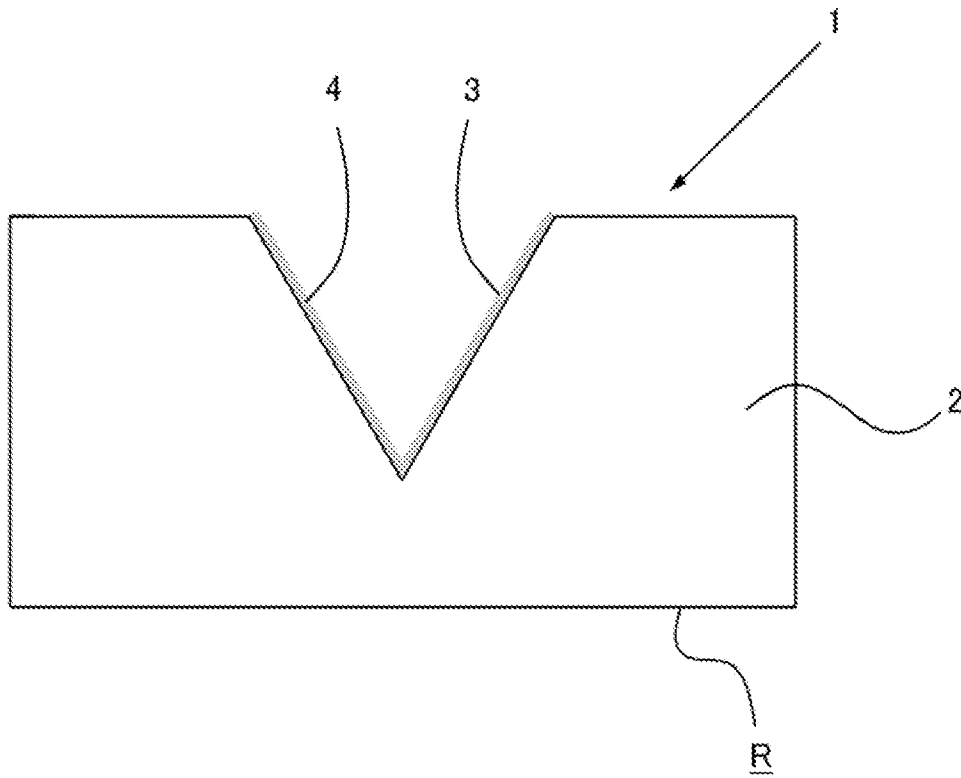
[図4]



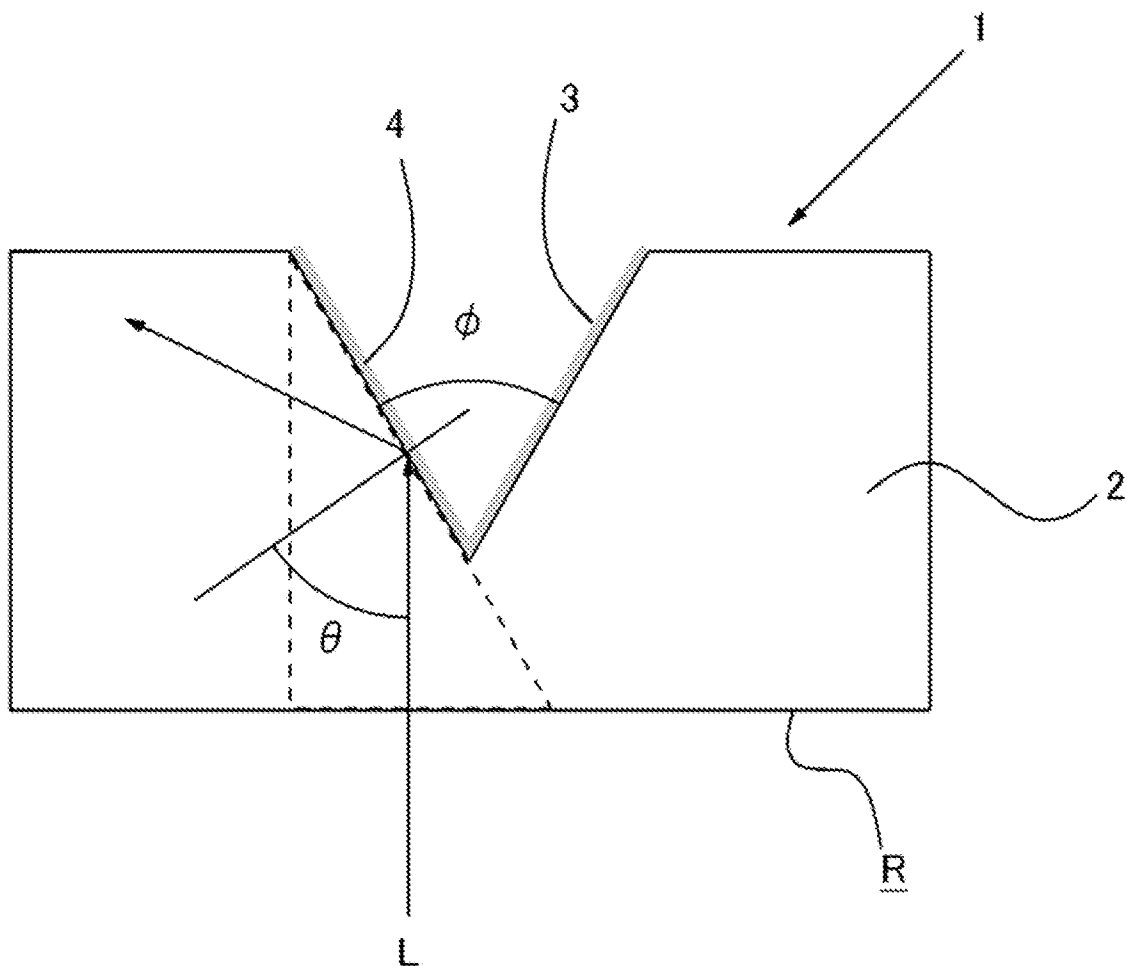
[図5(a)]



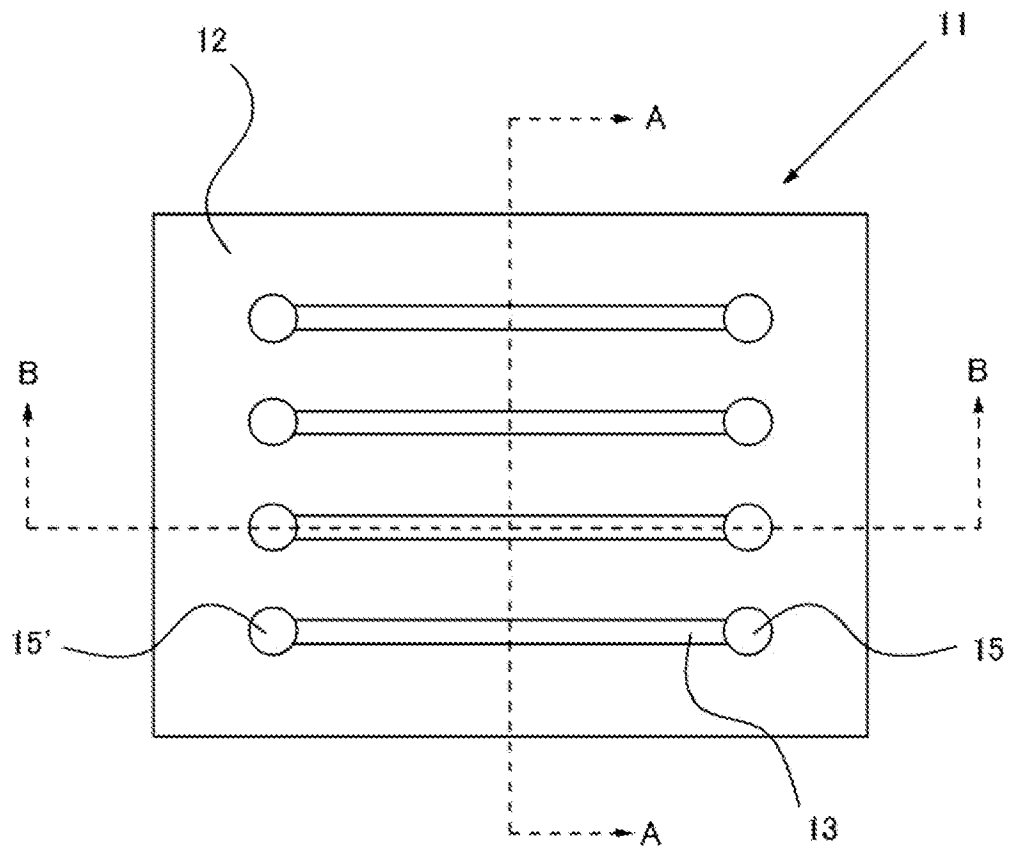
[図5(b)]



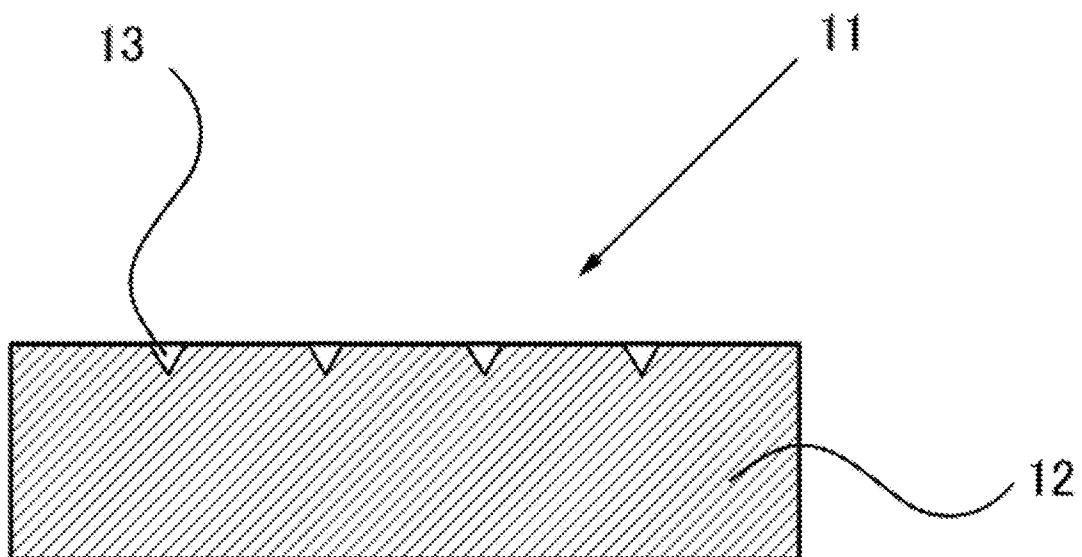
[図5(c)]



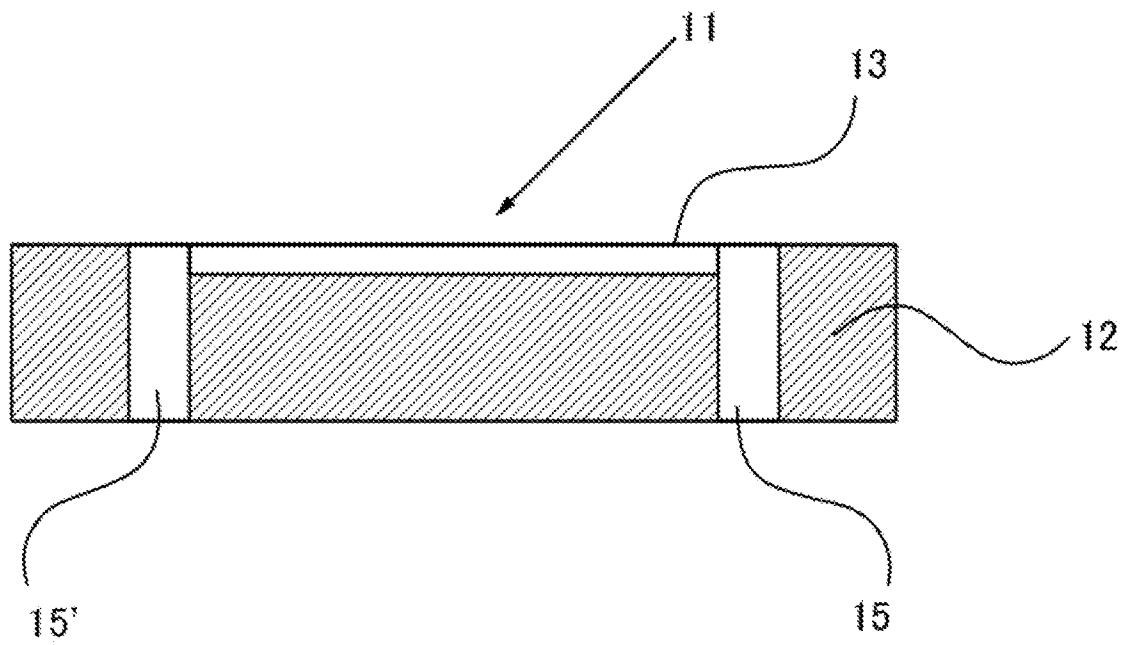
[図6(a)]



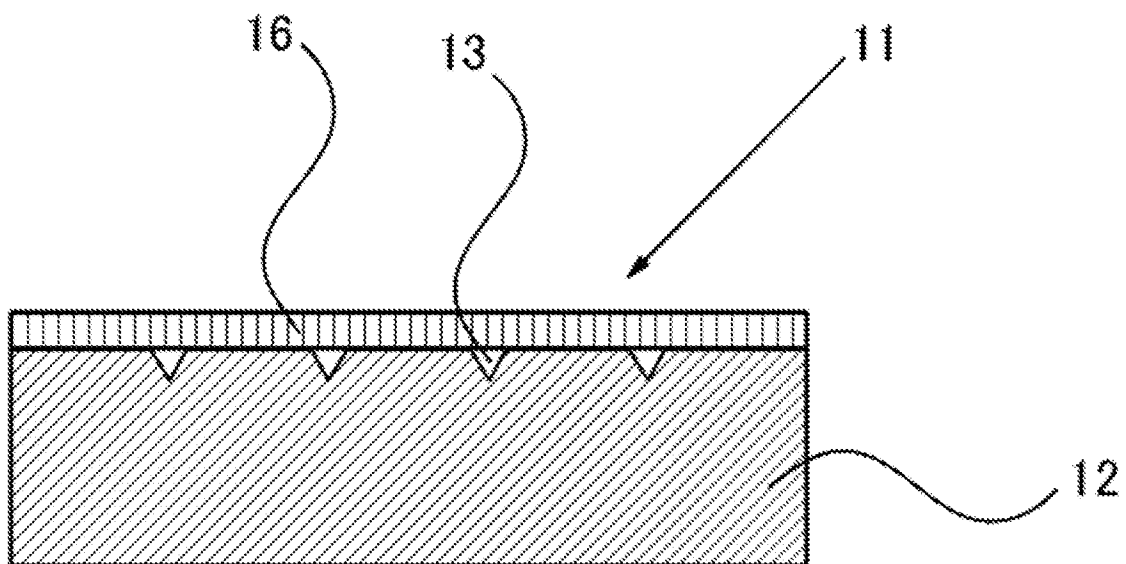
[図6(b)]



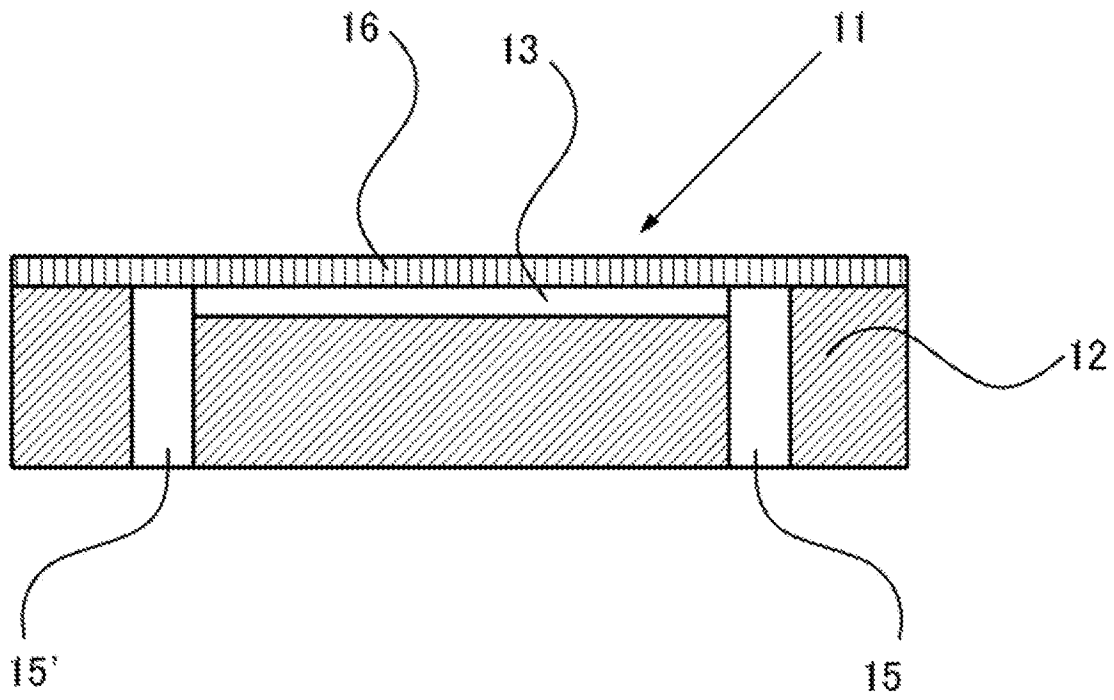
[図6(c)]



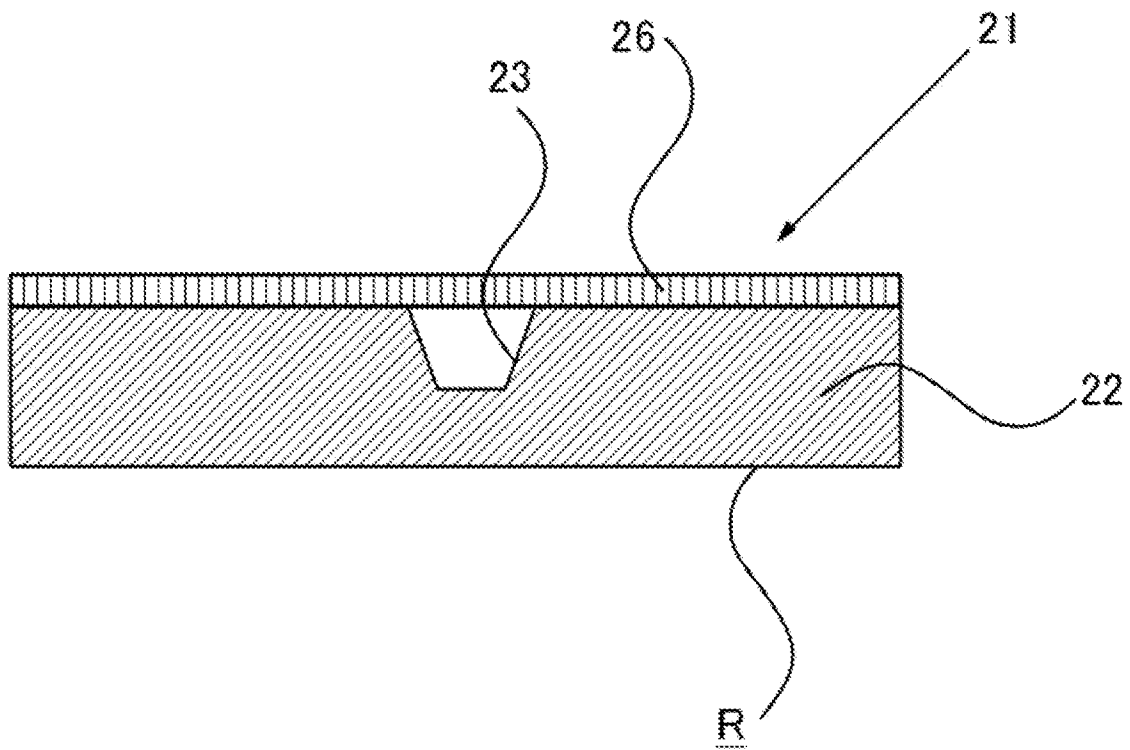
[図7(a)]



[図7(b)]

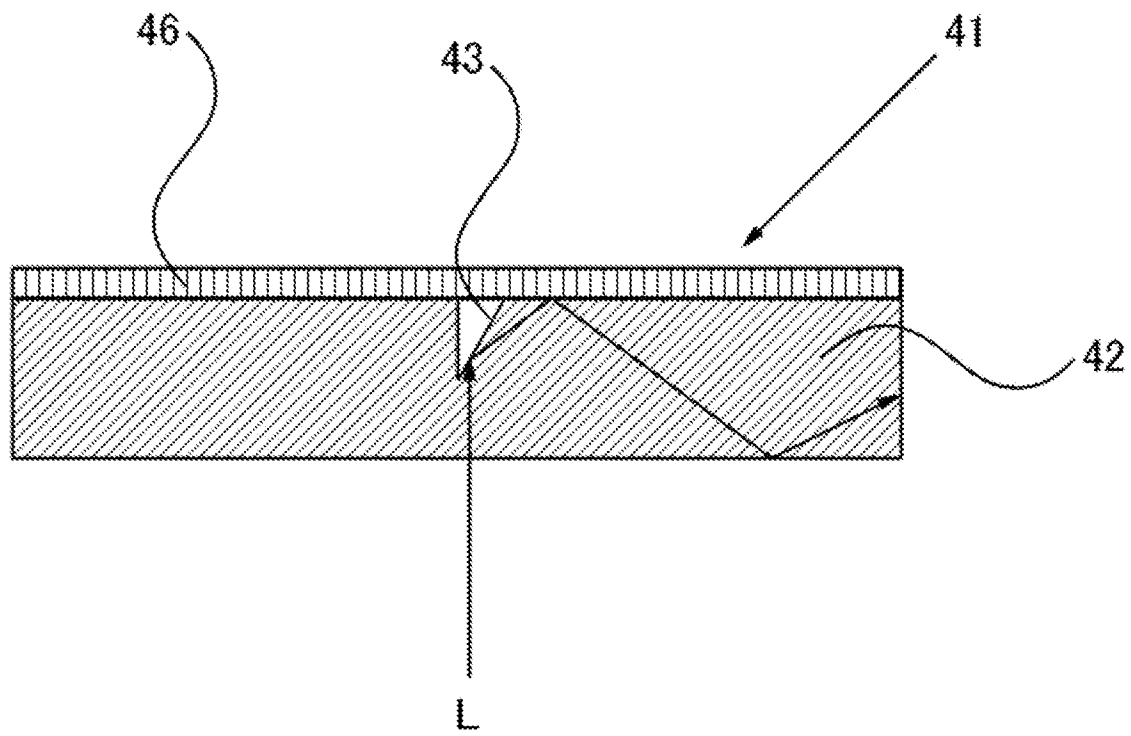


[図8(a)]

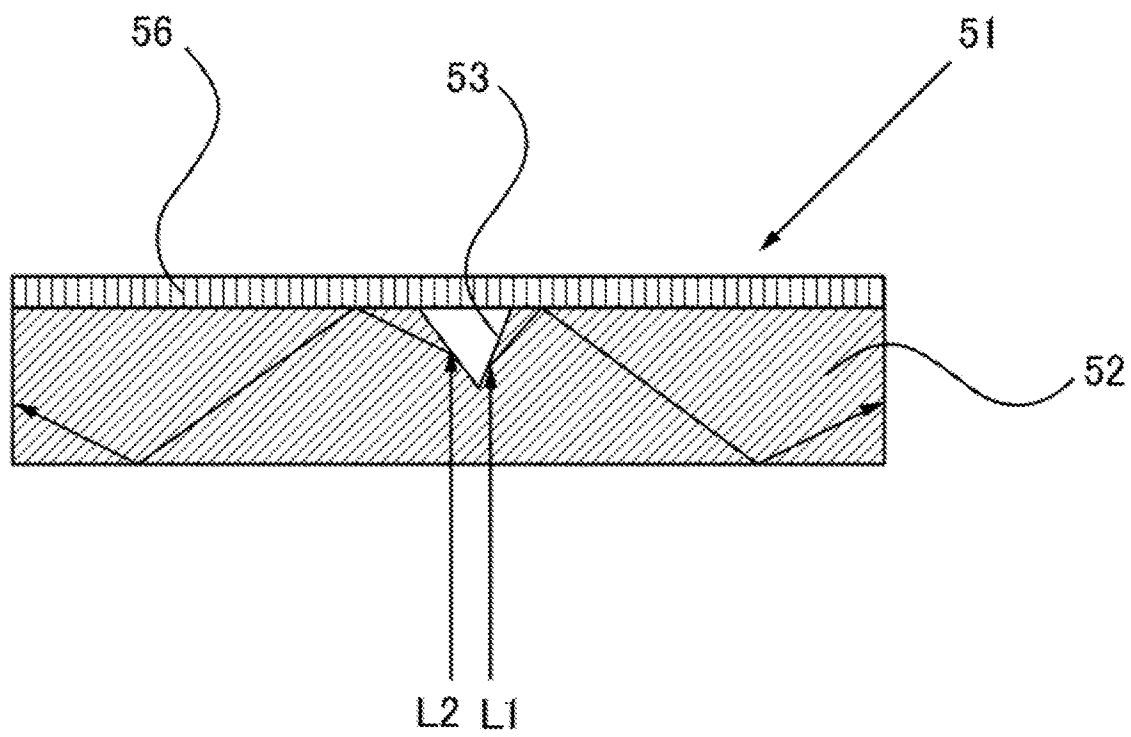




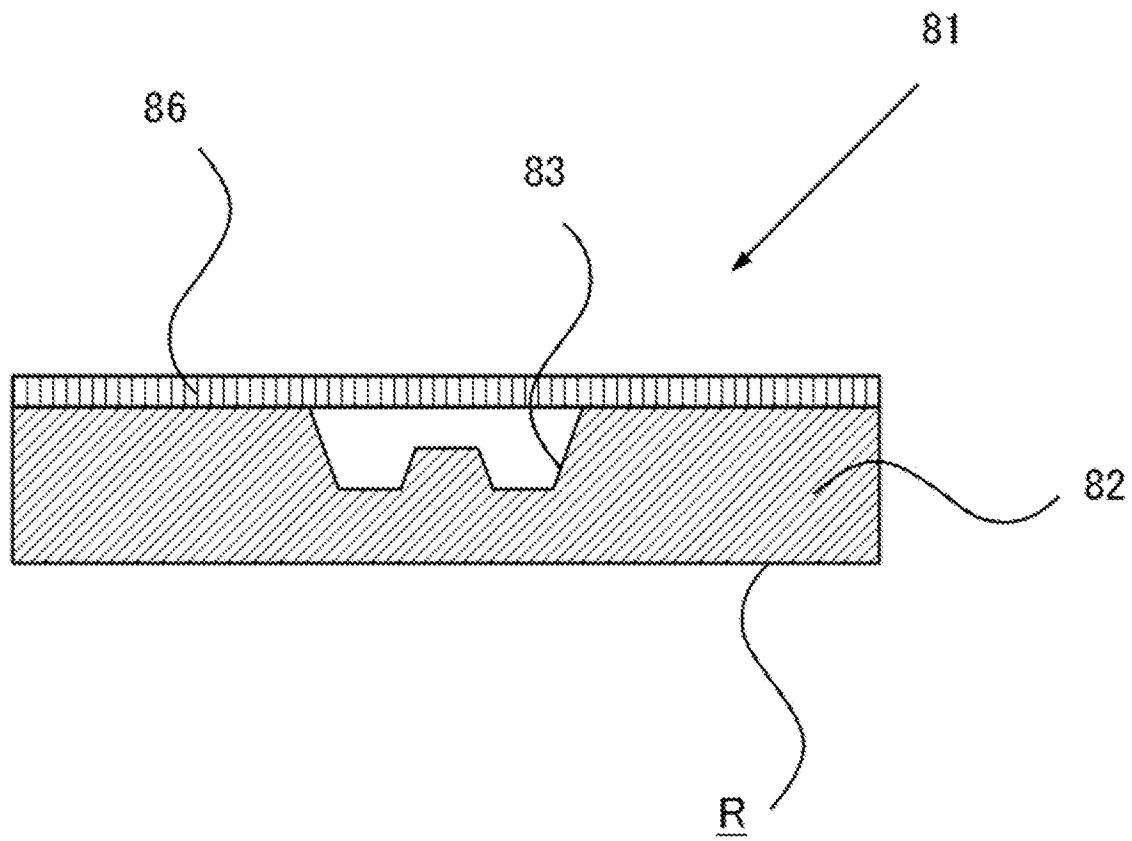
[図11]



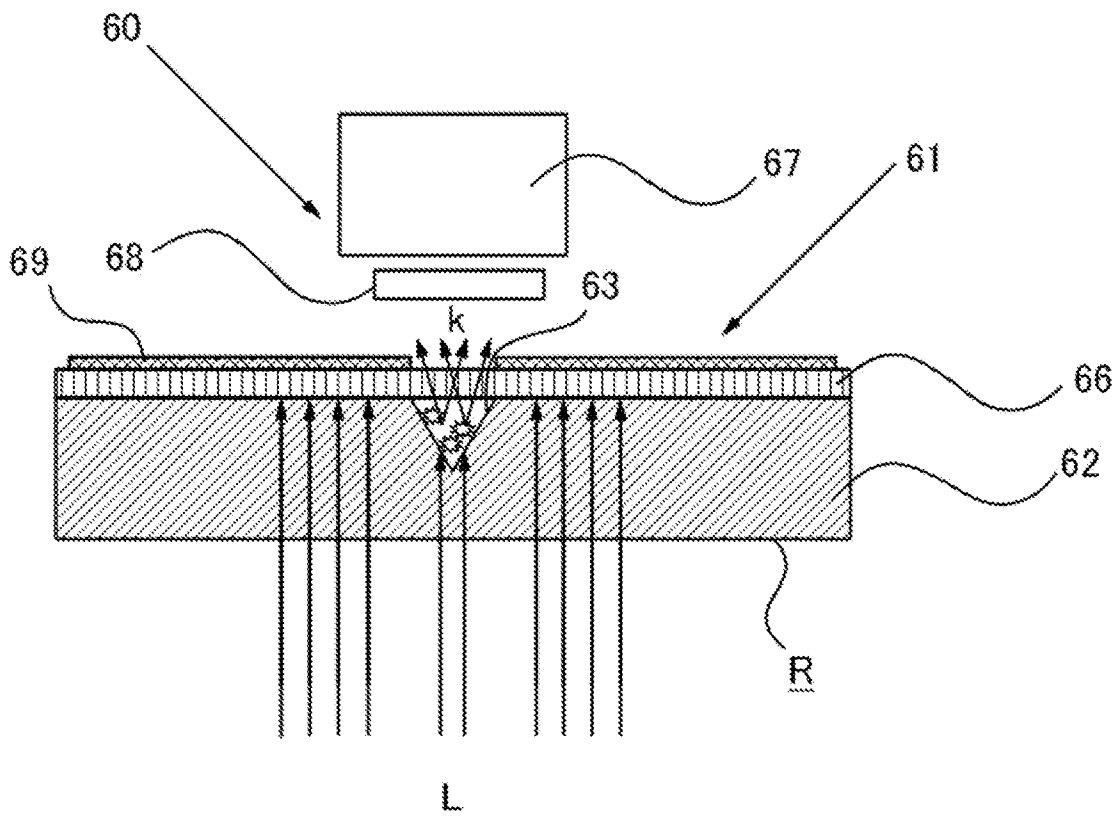
[図12]



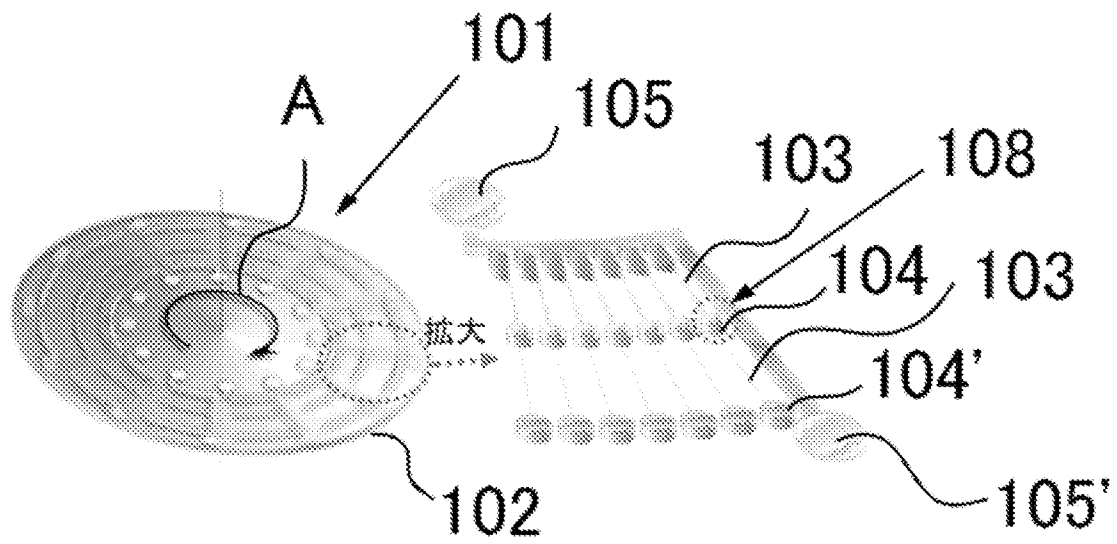
[図13]



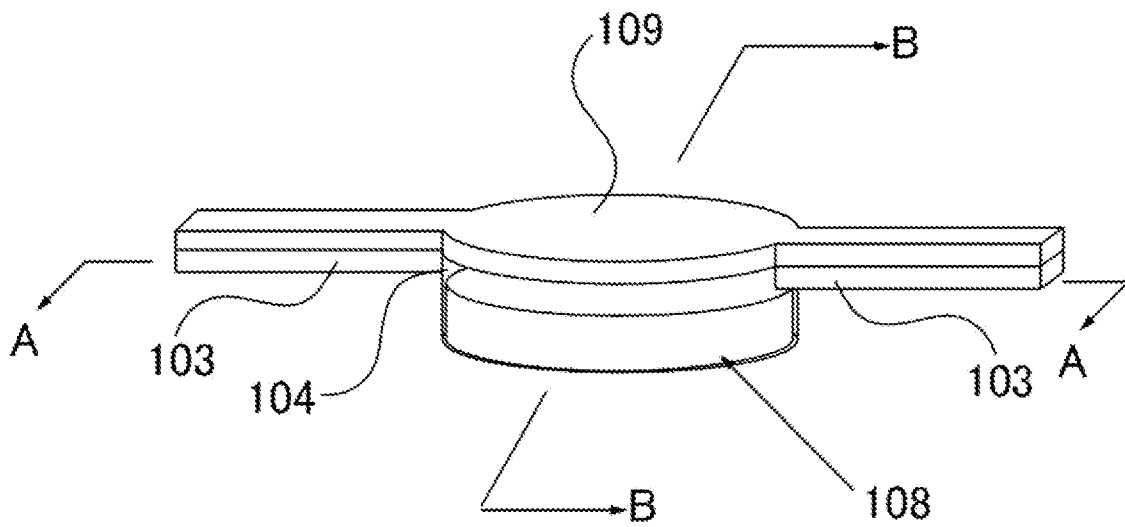
[図14]



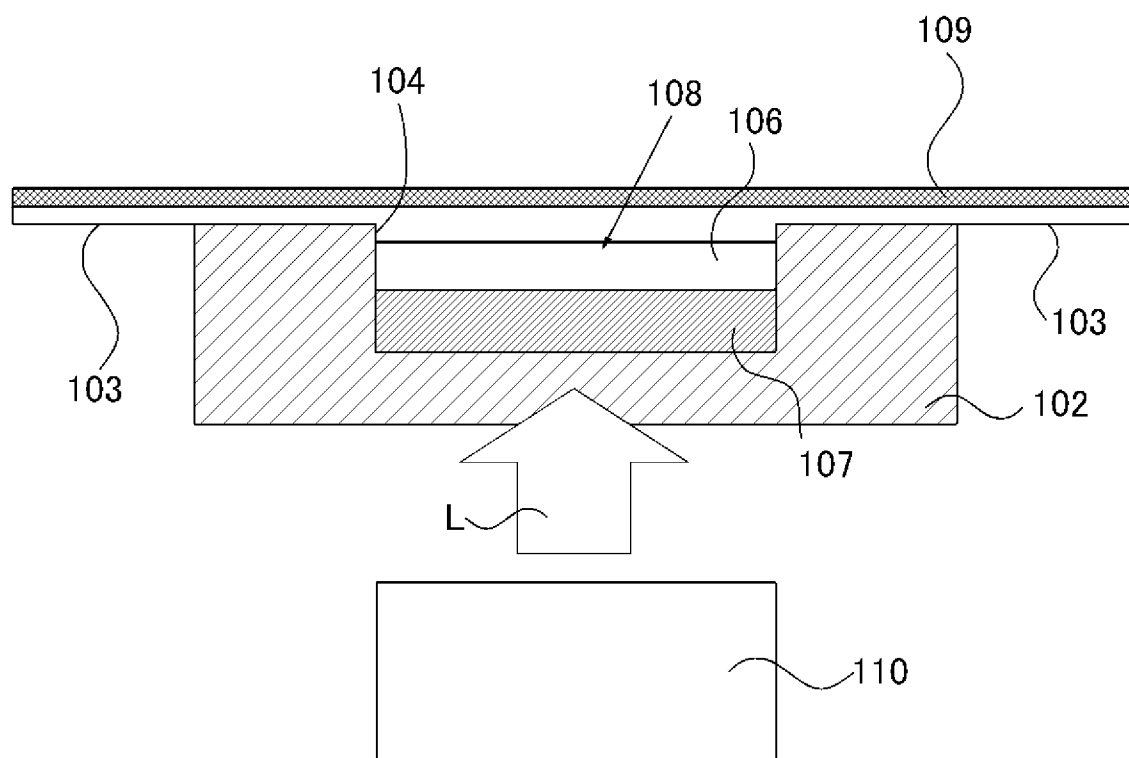
[図15]



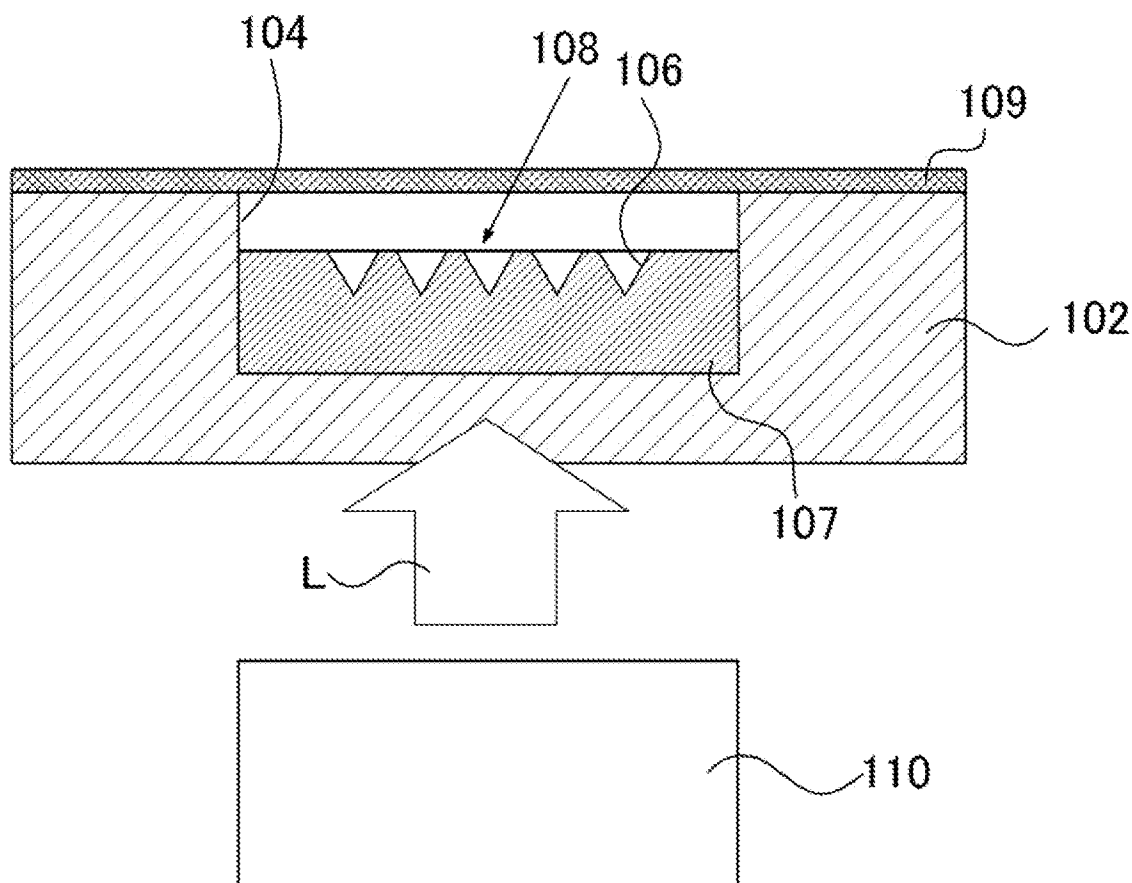
[図16]



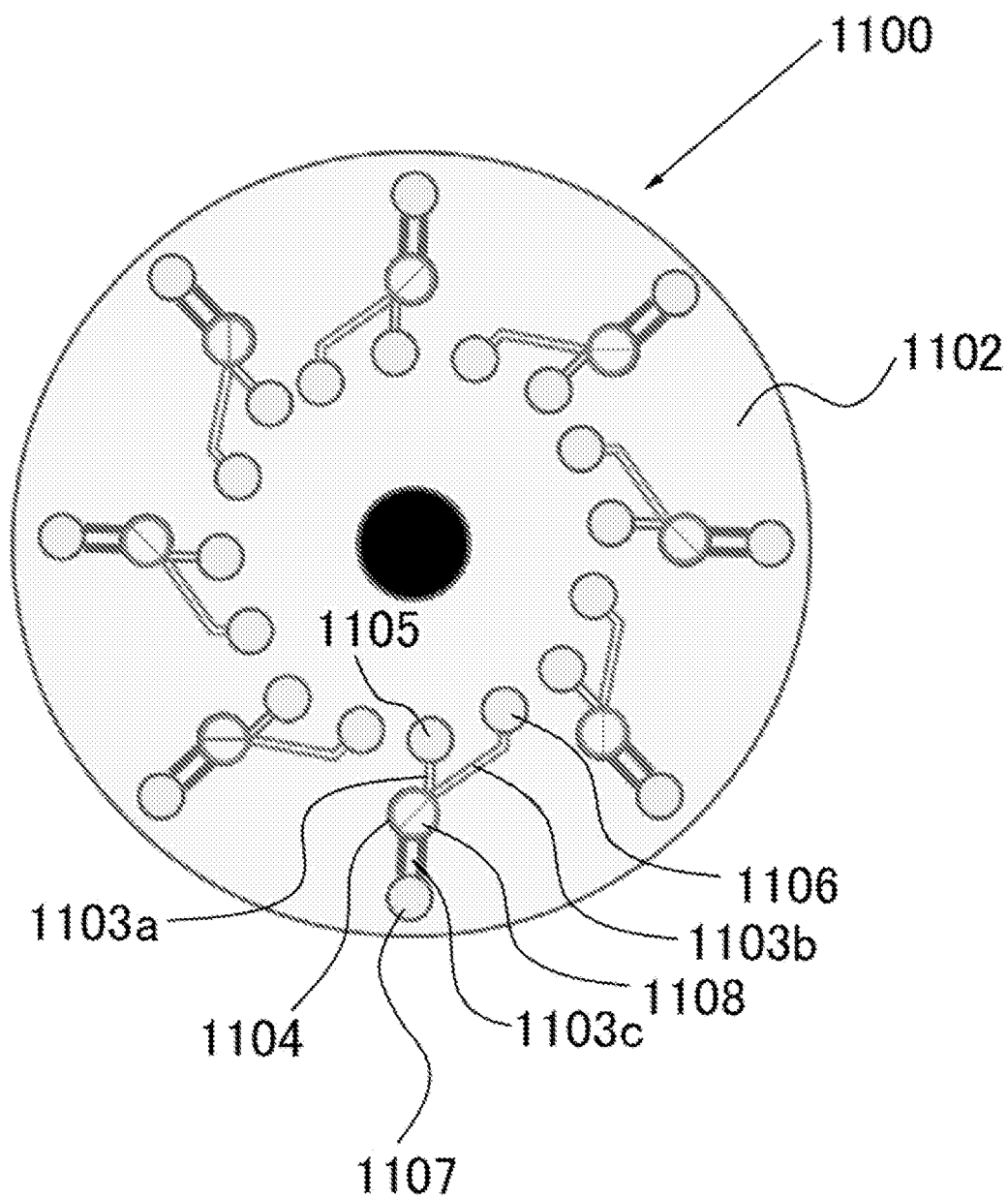
[図17(a)]



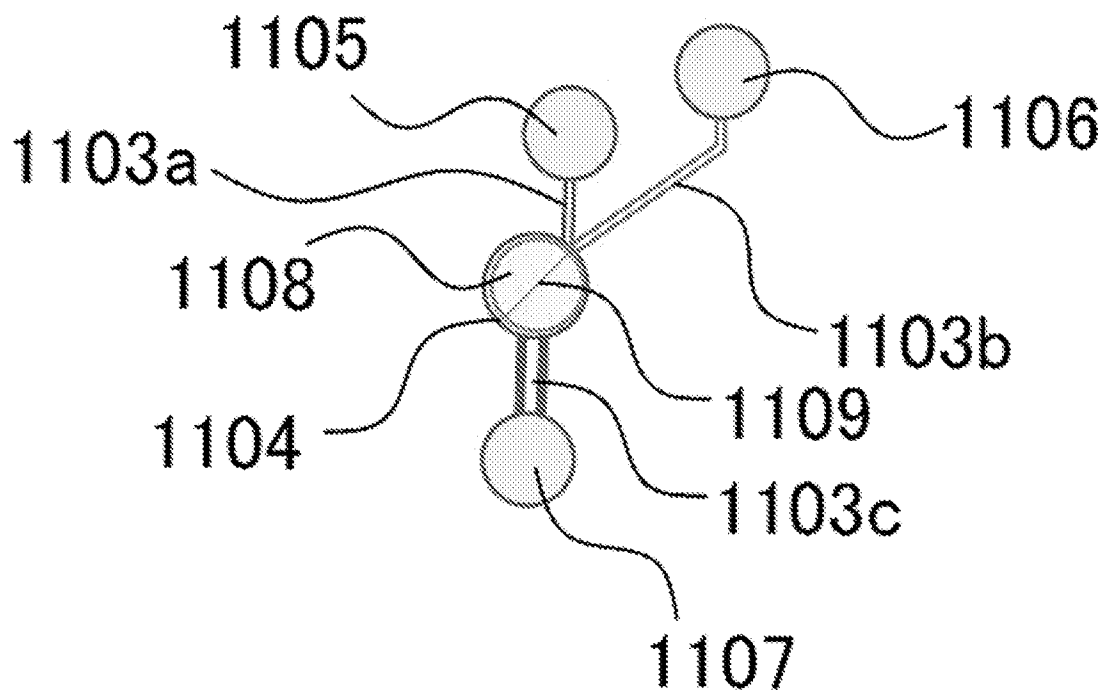
[図17(b)]



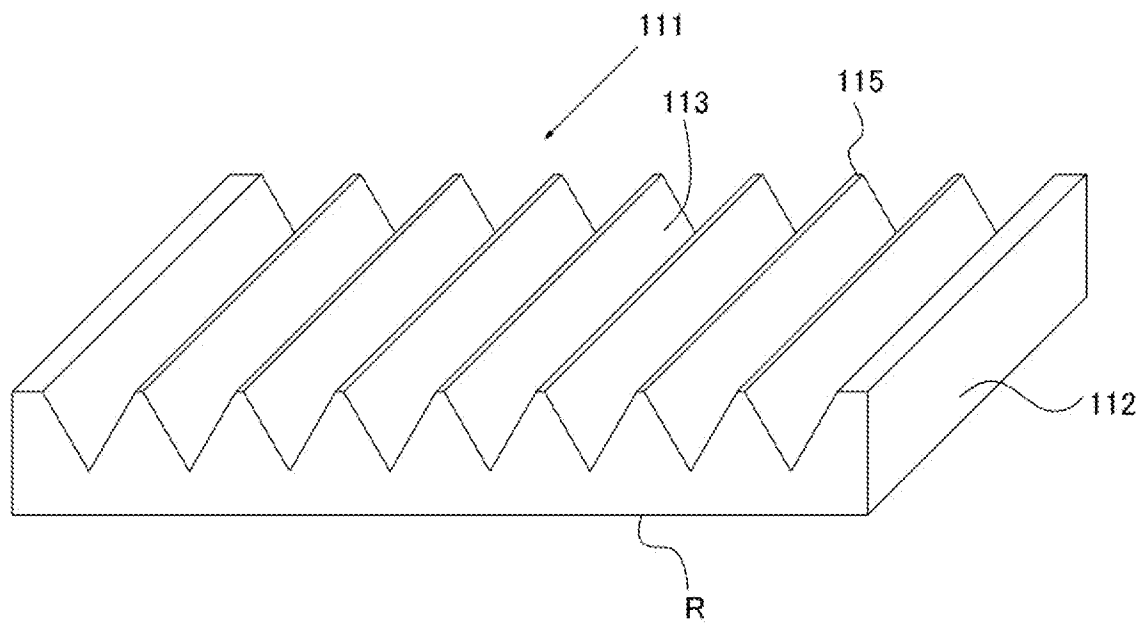
[図18(a)]



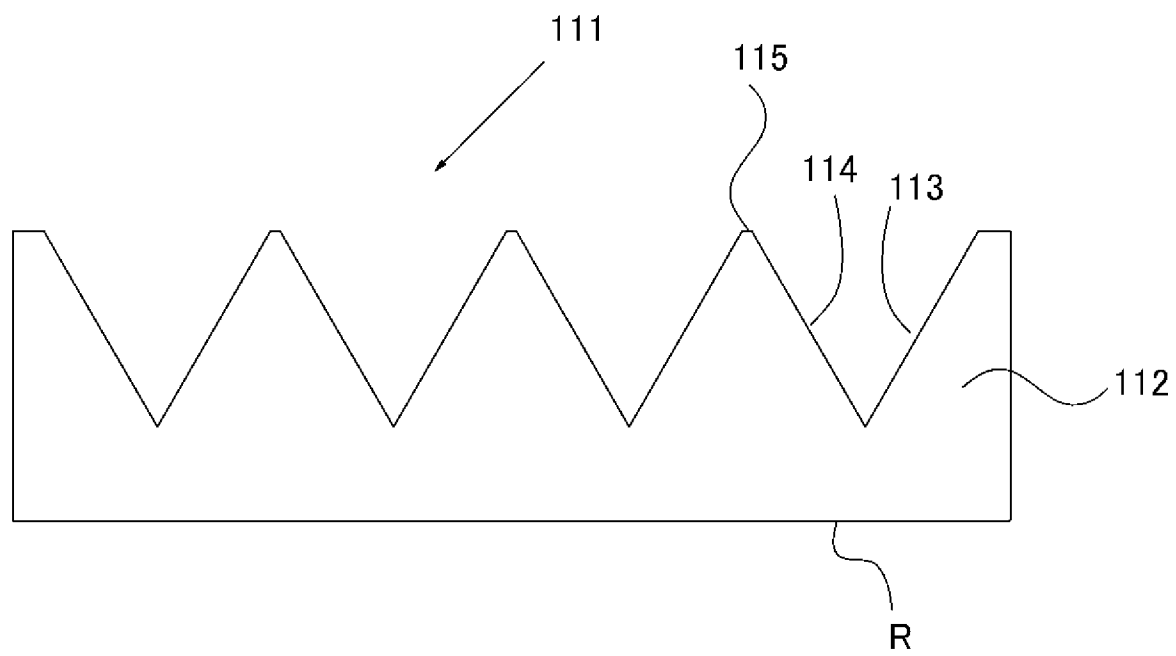
[図18(b)]



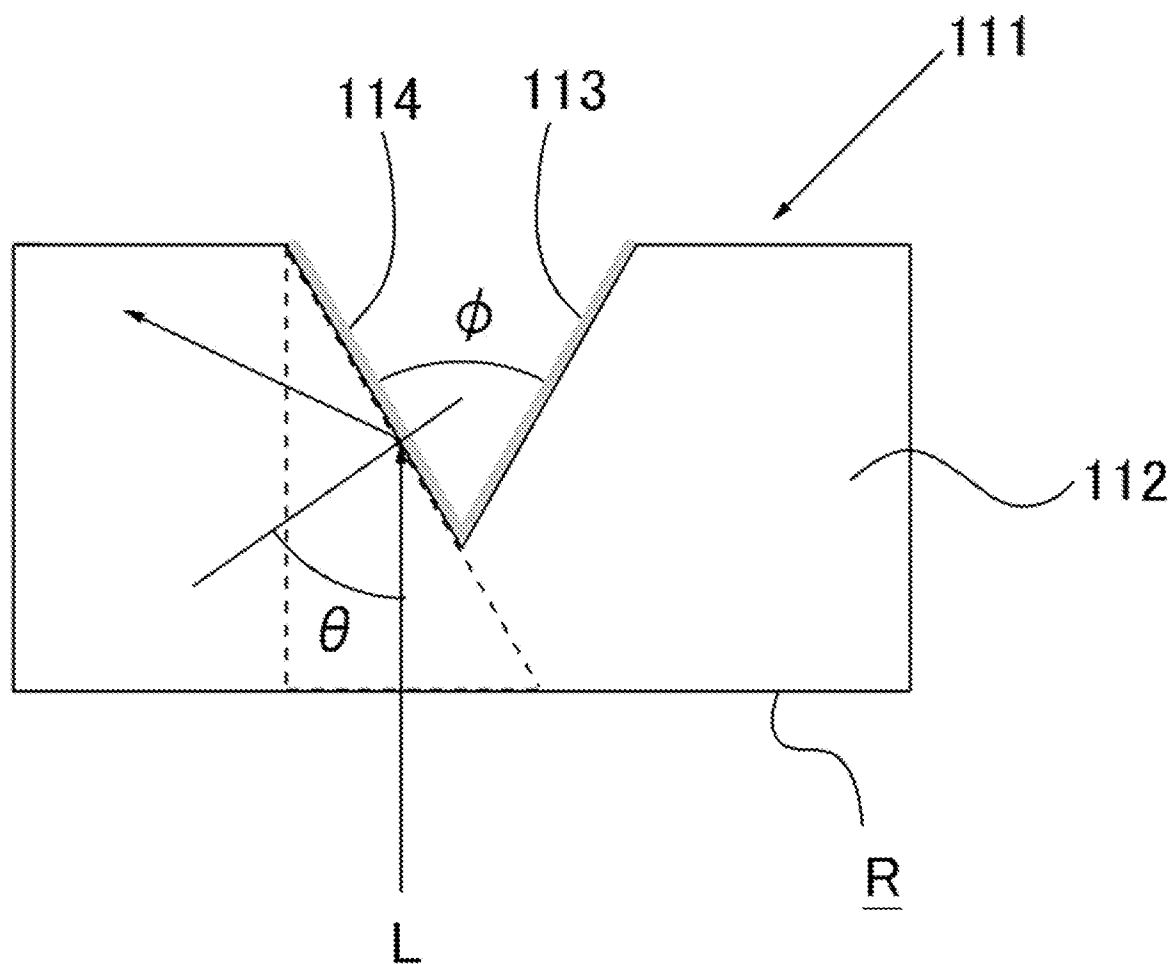
[図19(a)]



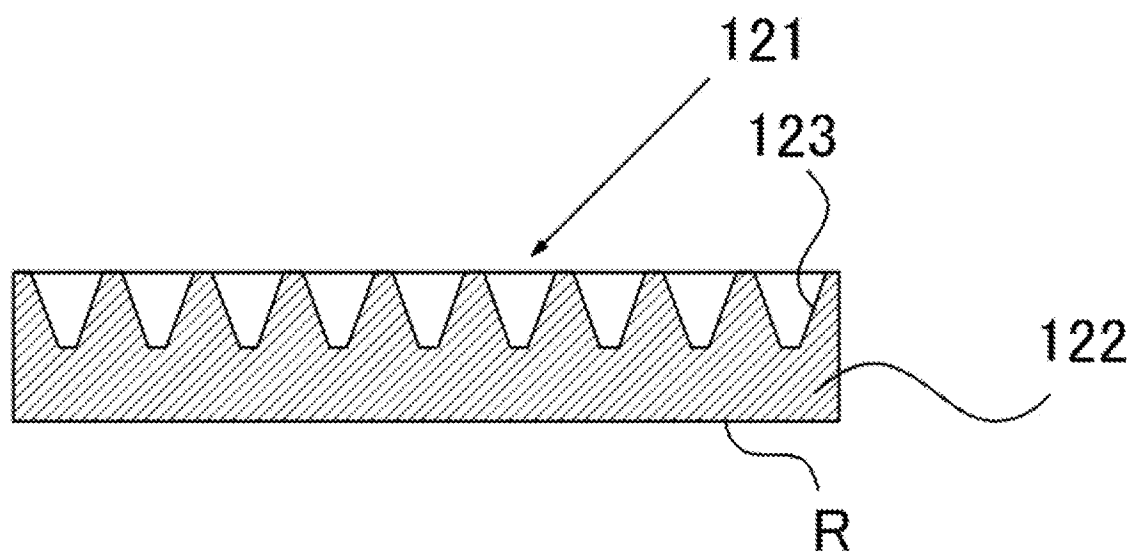
[図19(b)]



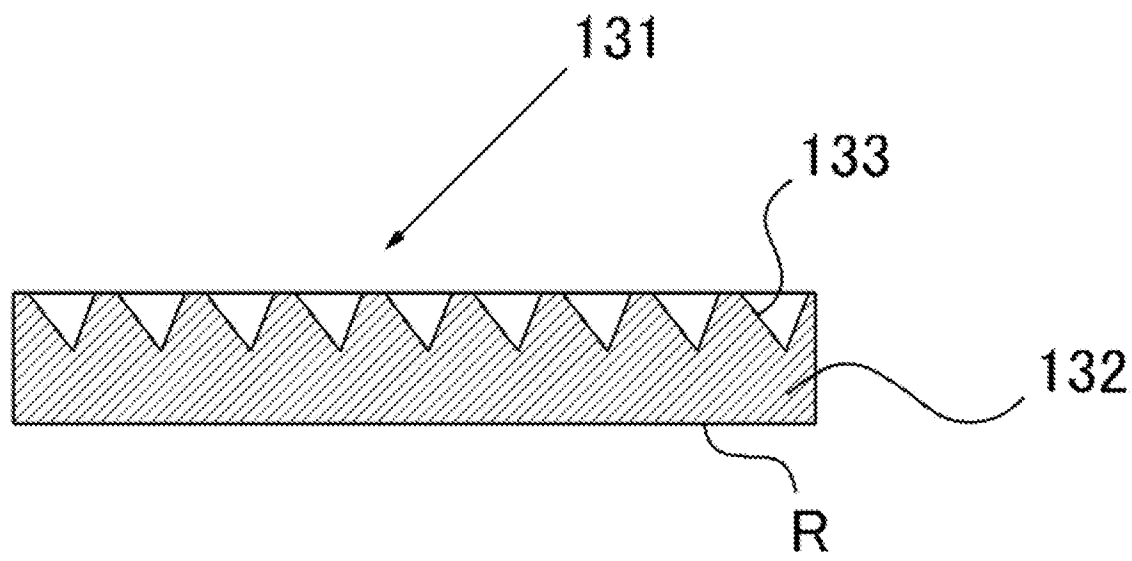
[図19(c)]



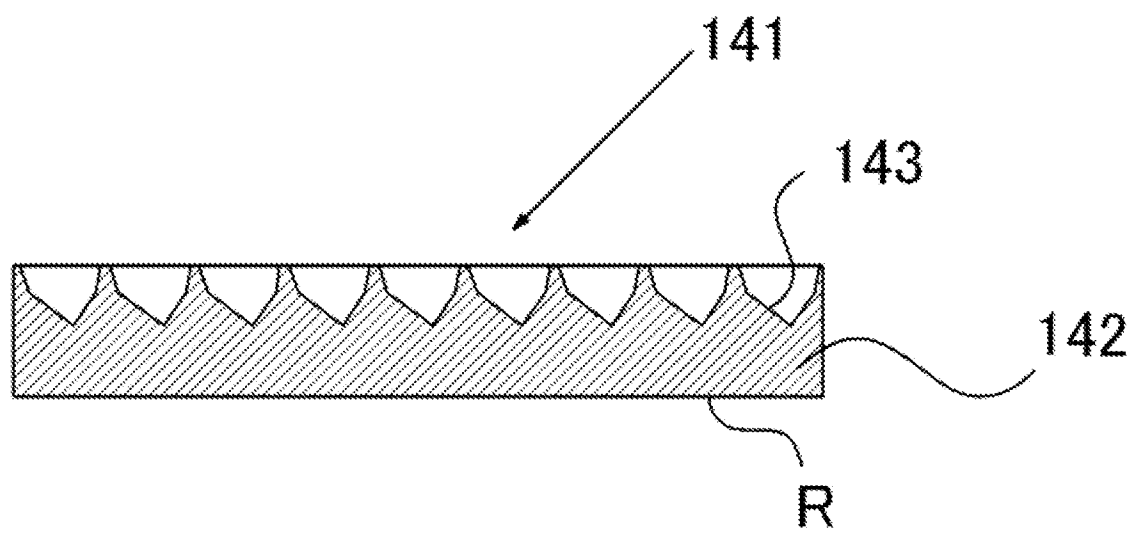
[図20]



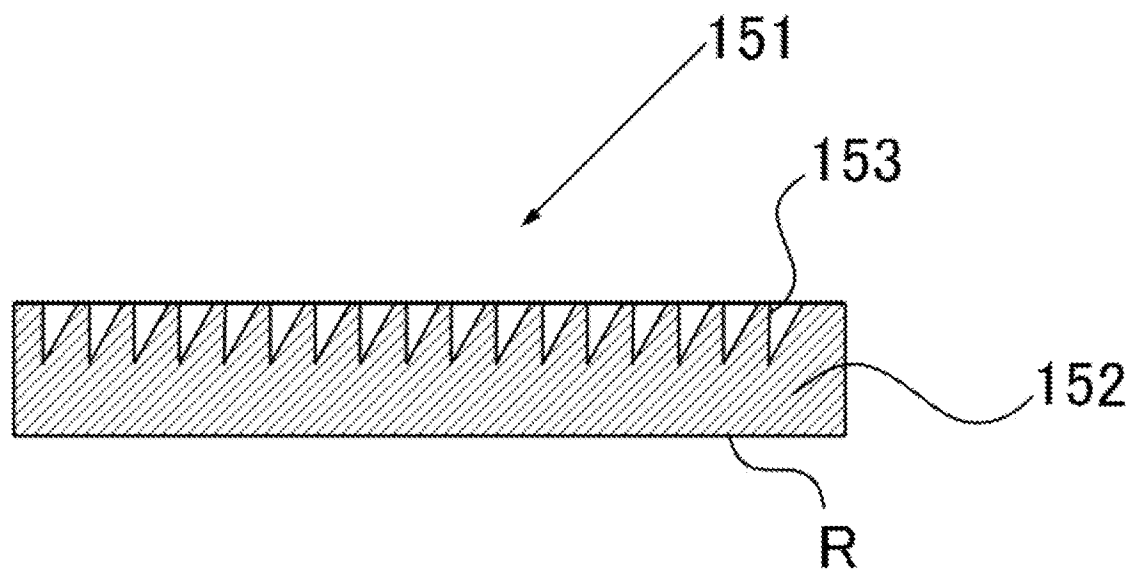
[図21]



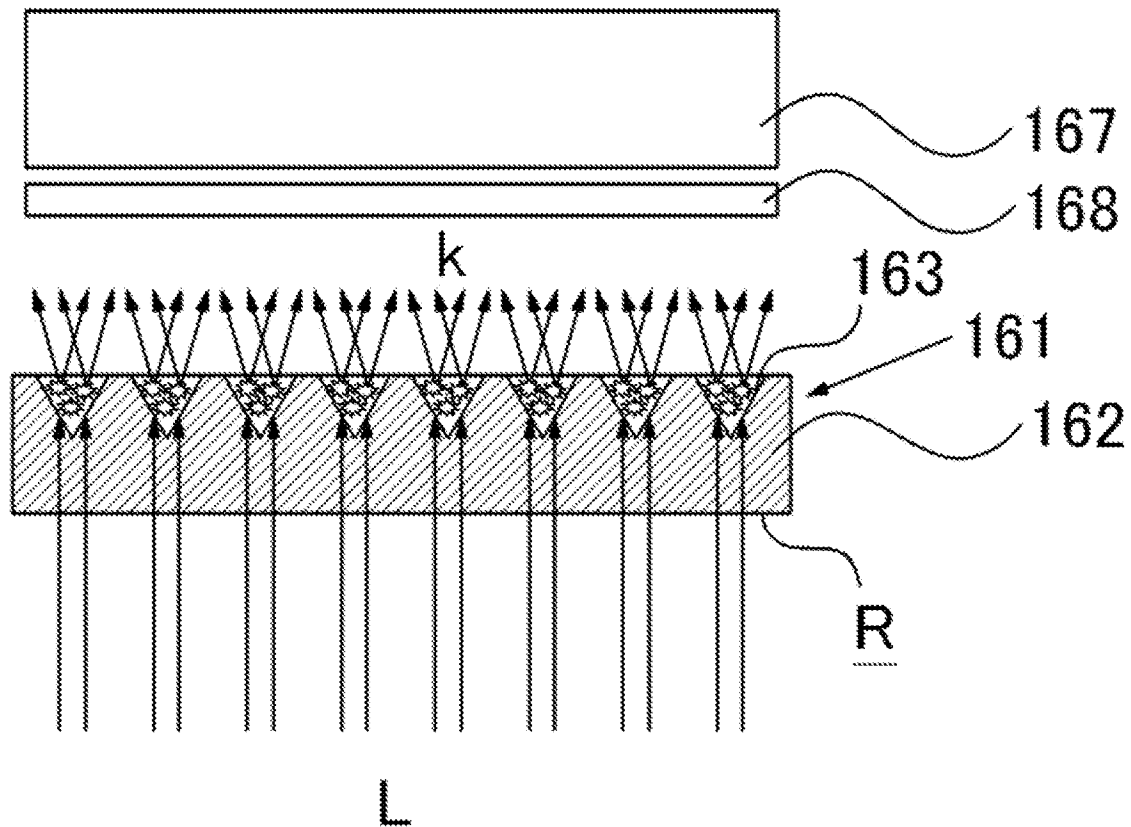
[図22]



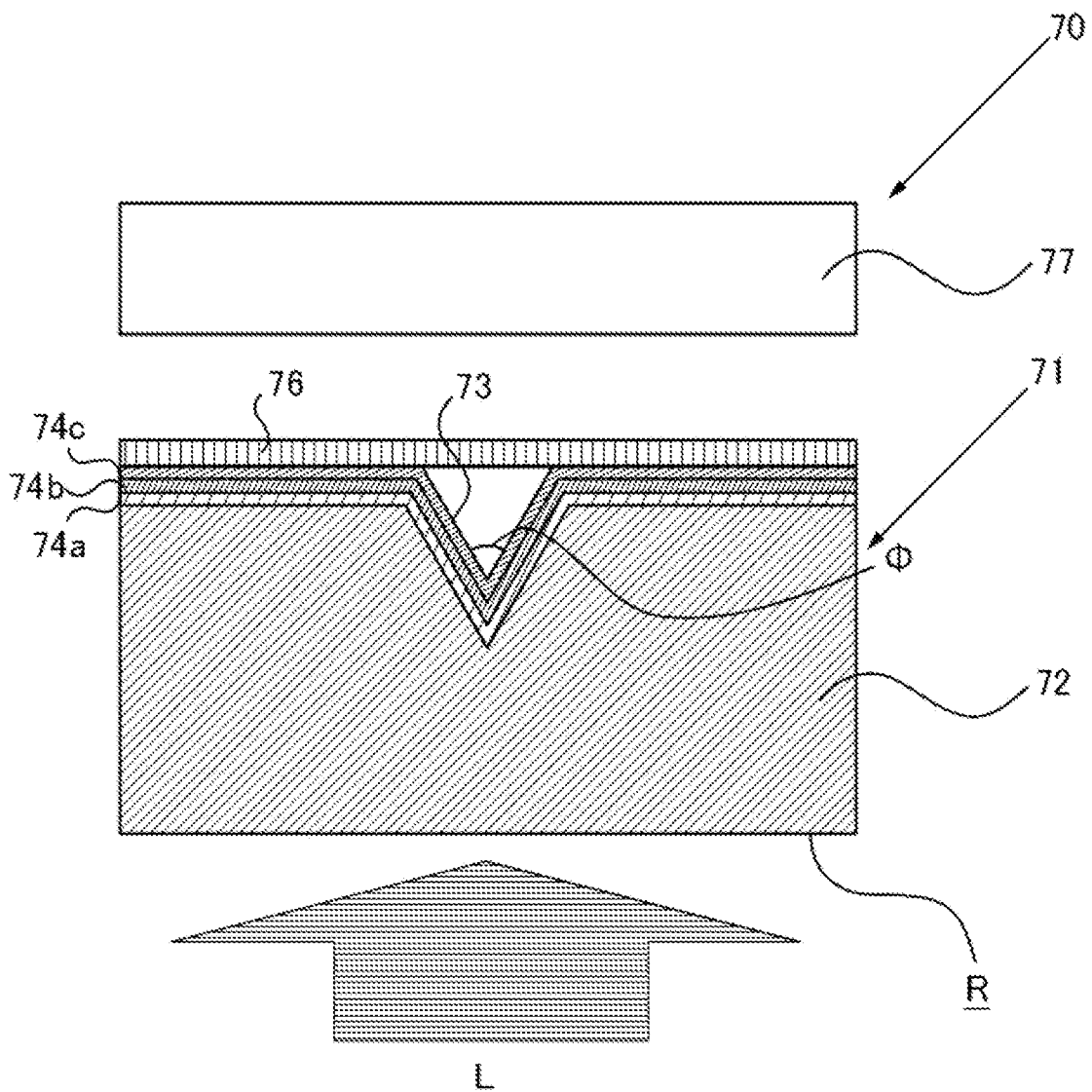
[図23]



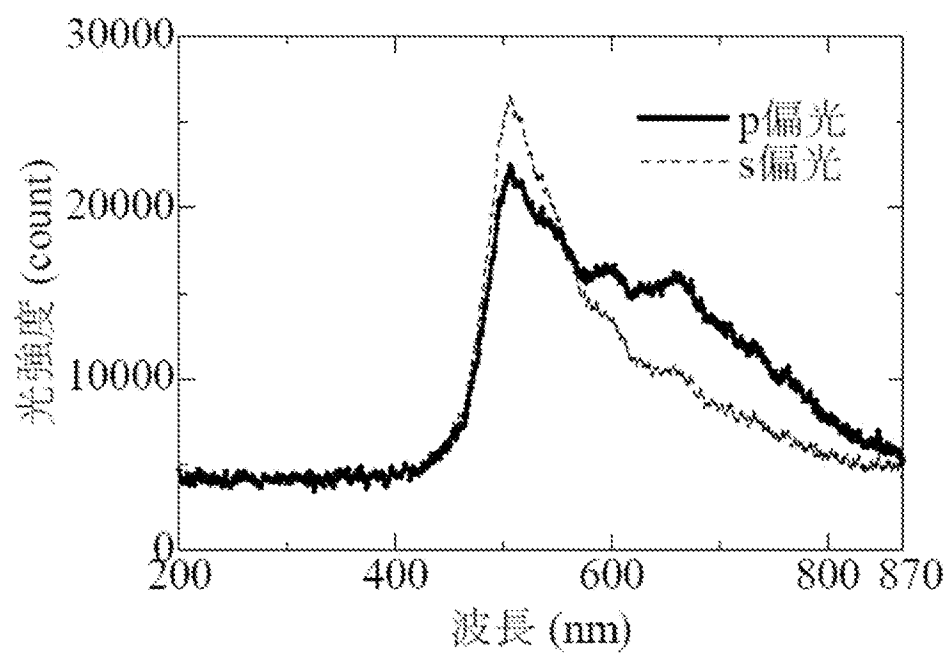
[図24]



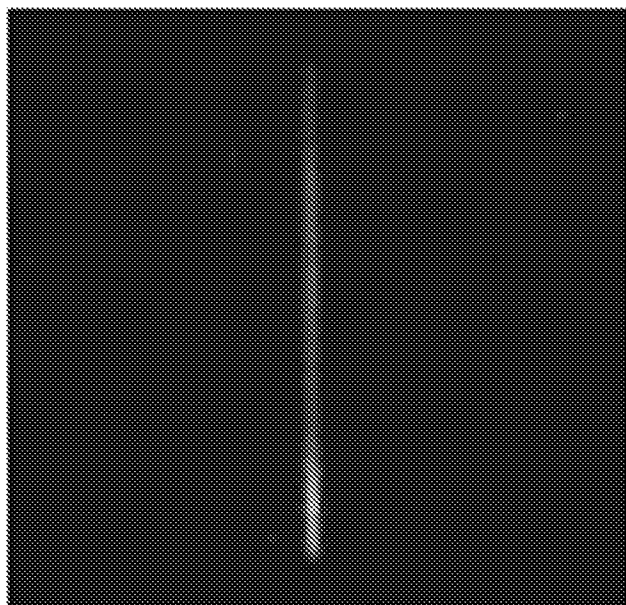
[図25]



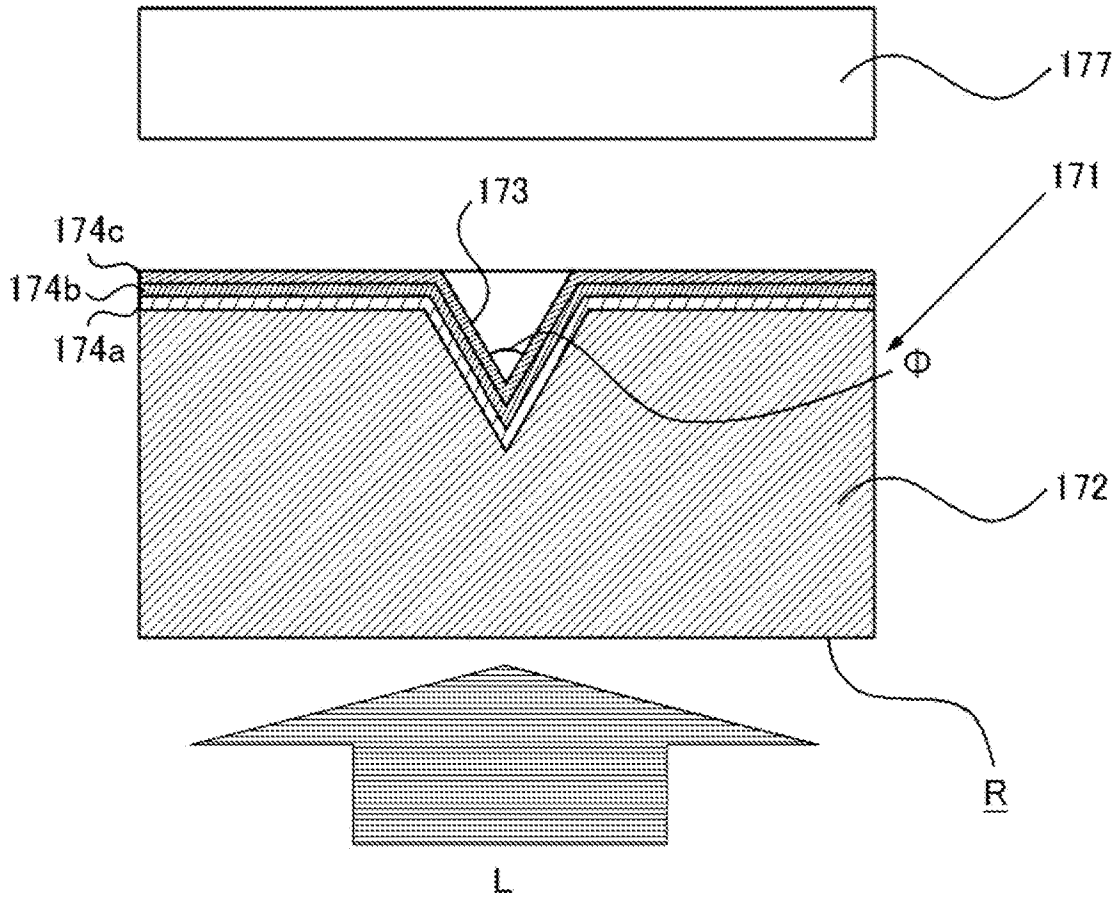
[図26]



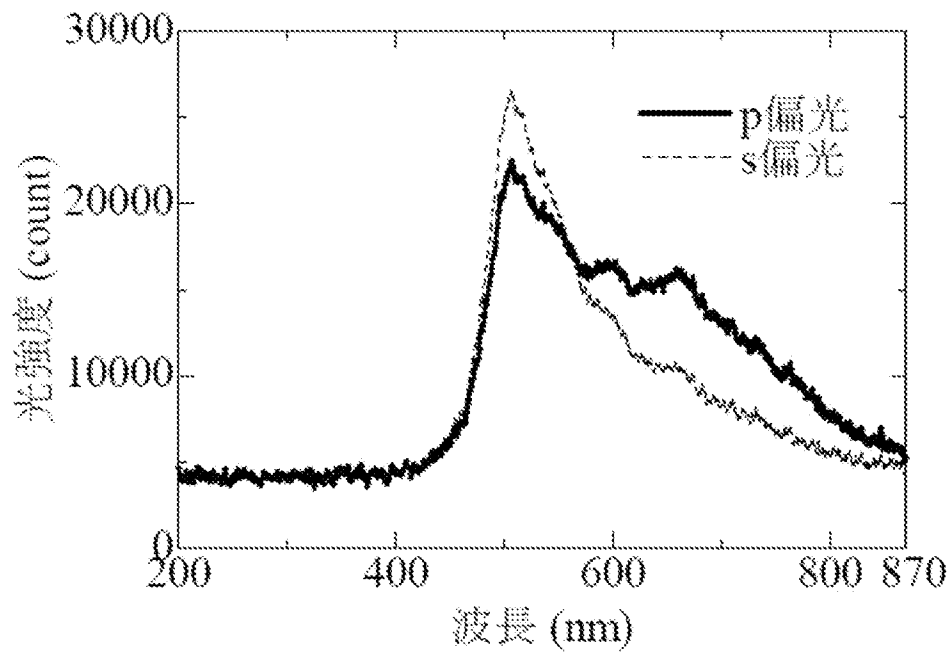
[図27]



[図28]



[図29]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/066964

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/27(2006.01) i

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

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N21/27

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	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

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.
Y	JP 2003-215027 A (Japan Science and Technology Corp.), 30 July 2003 (30.07.2003), entire text; all drawings (Family: none)	1-29
Y	JP 2011-501183 A (Koninklijke Philips Electronics N.V.), 06 January 2011 (06.01.2011), entire text; all drawings & WO 2009/057024 A1	1-29
A	JP 9-257806 A (Toto Ltd.), 03 October 1997 (03.10.1997), entire text; all drawings (Family: none)	1-29

 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

"I" 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

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
30 July, 2012 (30.07.12)Date of mailing of the international search report  
07 August, 2012 (07.08.12)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2012/066964

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 2010-127624 A (Fujifilm Corp.), 10 June 2010 (10.06.2010), entire text; all drawings & EP 2189782 A2	1-29
A	WO 01/058355 A1 (Matsushita Electric Industrial Co., Ltd.), 16 August 2001 (16.08.2001), entire text; all drawings & EP 1254631 A1	1-29

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N21/27(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N21/27

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	1971-2012年
日本国実用新案登録公報	1996-2012年
日本国登録実用新案公報	1994-2012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
Y	JP 2003-215027 A (科学技術振興事業団) 2003.07.30, 全文全図 (ファミリーなし)	1-29
Y	JP 2011-501183 A (コーニンクレッカ フィリップス エレクトロニクス エヌ ヴィ) 2011.01.06, 全文全図 & WO 2009/057024 A1	1-29
A	JP 9-257806 A (東陶機器株式会社) 1997.10.03, 全文全図 (ファミリーなし)	1-29

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

30.07.2012

国際調査報告の発送日

07.08.2012

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)

森口 正治

2W

9403

電話番号 03-3581-1101 内線 3292

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 2010-127624 A (富士フイルム株式会社) 2010.06.10, 全文全図 & EP 2189782 A2	1-29
A	WO 01/058355 A1 (松下電器産業株式会社) 2001.08.16, 全文全図 & EP 1254631 A1	1-29