

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2006-10534

(P2006-10534A)

(43) 公開日 平成18年1月12日(2006.1.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
GO 1 N 33/543 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 9 5	2 GO 5 9
GO 1 N 21/27 (2006.01)	GO 1 N 33/543 5 4 1 A	
GO 1 N 33/553 (2006.01)	GO 1 N 21/27 C	
	GO 1 N 33/553	

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2004-188881 (P2004-188881)	(71) 出願人	000001007
(22) 出願日	平成16年6月25日 (2004. 6. 25)		キヤノン株式会社
			東京都大田区下丸子3丁目30番2号
		(74) 代理人	100123788
			弁理士 宮崎 昭夫
		(74) 代理人	100106297
			弁理士 伊藤 克博
		(74) 代理人	100106138
			弁理士 石橋 政幸
		(72) 発明者	西馬 聡
			東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キヤノン株式会社内
		(72) 発明者	宇都宮 紀彦
			東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キヤノン株式会社内
			最終頁に続く

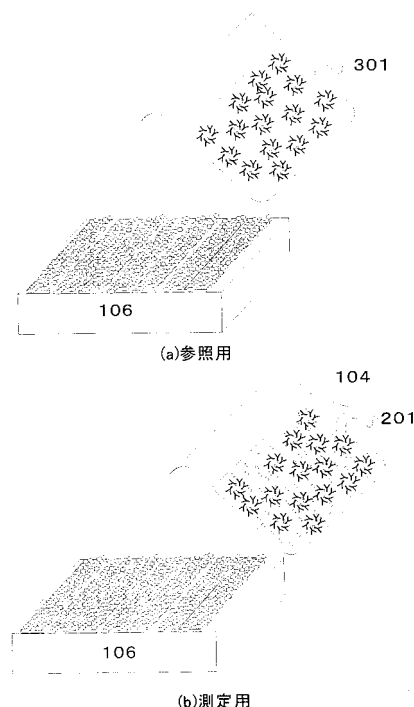
(54) 【発明の名称】 コア・シェル型磁性粒子センサー

(57) 【要約】

【課題】 液媒体に分散させた状態で標的物質とその捕捉体とを反応させて拡散律速を抑えることで反応効率を向上させ、この反応を行なった後に、プラズモン共鳴を生じさせる周期構造を設けた検出用の素子の表面に、捕捉体で捕捉した標的物質を、簡単、かつ取扱い性よく、分散させて、高感度な測定を可能とする検出用素子と磁性粒子との組合せを提供すること。

【解決手段】 磁性体からなるコアの表面に金属層を設け、更に、金属層表面に標的物質捕捉体を保持させた磁性粒子と試料中の標的物質とを液媒体での分散状態で反応させてから、プラズモン共鳴を測定し得る周期的構造を有する素子の表面にこれを適用し、標的物質の濃度に基づくプラズモン共鳴の変化を光学的に検出して試料中の標的物質の濃度を検出する。

【選択図】 図3



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

プラズモン共鳴を利用して検体中の標的物質を検出するための素子であって、
前記標的物質との結合能を有する捕捉体を保持する金属により被覆された磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面と、該表面に設けられたプラズモン共鳴を生じ得る周期構造と、を有し、

前記磁性体粒子が前記基体の前記周期構造を有する表面に固定されたときに、該表面に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を検出し、検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面への前記標的物質の結合に基づく変化から該標的物質の該磁性粒子への結合量を求めるために用いるものである

ことを特徴とする標的物質検出用の素子。

10

【請求項 2】

前記周期構造が、前記基体の表面に設けられた周期的な凹凸を有する請求項 1 に記載の素子。

【請求項 3】

前記周期構造が、前記基体が磁氣的性質の異なる少なくとも 2 つの材料の周期的な配置を有する請求項 1 に記載の素子。

【請求項 4】

検体中の標的物質を検出するための装置であって、

前記標的物質と、前記標的物質との結合能を有する捕捉体を表面に有する、金属により被覆された磁性粒子とを結合させる手段と、

20

前記磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面にプラズモン共鳴を生じ得る周期構造を設けた基体を有する検出用素子に、磁性粒子を固定するための手段と、

前記周期構造に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を光学的に検出するための検出手段と、

前記検出手段で検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面へ前記標的物質が結合している場合における変化に基づいて該標的物質の該磁性粒子への結合量を求めるための定量手段と、

を有することを特徴とする標的物質検出装置。

30

【請求項 5】

検体中の標的物質を検出する方法であって、

前記標的物質と、前記標的物質との結合能を有する捕捉体を表面に有する、金属により被覆された磁性粒子とを結合させる工程と、

前記磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面にプラズモン共鳴を生じ得る周期構造を設けた基体を有する検出用素子に、前記標的物質が結合した磁性粒子を固定させる工程と、

前記標的物質が結合した磁性粒子が固定されている周期構造に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を検出し、検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面への前記標的物質の結合による変化に基づいて前記標的物質の結合量を求める工程と

を有することを特徴とする標的物質検出方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

タンパク質やDNAなど検体中の標的物質と、金属に固定化された捕捉体を高効率に反応させ、標的物質の検出感度を向上させる技術を提供する。

【背景技術】

【0002】

血液中には、ガン・肝炎・糖尿病・骨粗しょう症など特定の疾患に対するマーカーが複数存在している。罹患した際には、平時より特定のタンパク質の濃度が増加する。これらを平時からモニターしておくことで、重大な病気を早期に発見することが出来るため、次世代の医療技術として期待されている。未加工で未精製のタンパク質を分析するための方

50

法の１つは、生物学的なリガンド - アナライト相互作用を利用して特定の化合物を識別するセンサーを基本としたものである。

【 0 0 0 3 】

センサーには、蛍光標識免疫法、磁気標識免疫法、プラズモン共鳴法など幾つかの方法があるが、どの場合もリガントをセンサー表面に固定し、検体中のアナライトを高感度にかつ選択性よく選別して結合することにより夾雑物を排除し、目的とするタンパク質のみを高効率に基板表面に固定化することが共通のステップとなる。蛍光標識免疫法では、リガンド - アナライト複合体に、蛍光色素で標識した第二のリガントをさらに結合させ、蛍光色素を励起し、蛍光量を測定することでアナライトの濃度を測定する。磁気標識免疫法では、リガンド - アナライト複合体に、磁気ビーズで標識した第二のリガントをさらに結合させ、磁界の変化を検出することでアナライトの濃度を測定する。プラズモン共鳴法では、金属薄膜や金属の微粒子の上に形成されたリガンド - アナライト複合体を、金属プラズモンが界面物質の屈折率変化に高感度に反応することを利用して、アナライトの濃度を測定している。

10

【 0 0 0 4 】

特許文献１には、ガラス基板表面にAu微粒子を固定し、溶媒の屈折率変化や抗原抗体反応における抗原吸着の程度などを検出するプラズモン共鳴センサーが開示されている。該発明では、狭隘な場所に配置することや任意の形状の試料に対して優位であることが示されている。

【 0 0 0 5 】

20

特許文献２には、回折格子型SPR（サーフェスプラズモン共鳴）に微小な流路（マイクロチャンネルチップ）を組み合わせ検体や洗浄液の導入量を最小にして、測定対象物と特定物質とが結合 - 解離する過程を高効率で検出する装置が示されている。

【 0 0 0 6 】

非特許文献１には、フェライトを金で被覆したコア・シェル型の微粒子の作成方法、ならびに光学特性（吸光スペクトル）が示されている。

【特許文献１】特登録３４５２８３７号

【特許文献２】特開２００４ - ９３５５８

【非特許文献１】（NANO LETTERS, 2004, vol. 4, No. 4, p 719 - 723）

30

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 0 7 】

上記特許文献２では、標的物質と捕捉体を高効率に反応させる為に、検体を微小な流路中に注入し送液させることで、標的物質の濃度勾配が生じることによる拡散律速を抑制している。そして、固定化された捕捉体に捕捉された標的物質を、プラズモン共鳴の変化によりその濃度を検出している。すなわち、プラズモン共鳴を生じさせる表面に検体を接触させる際に標的物質の濃度勾配が生じることによる拡散律速を抑制するための特別な構造が必要となる。

【 0 0 0 8 】

40

本発明の目的は、液媒体に分散させた状態で標的物質とその捕捉体とを反応させて拡散律速を抑えることで反応効率を向上させ、この反応を行なった後に、プラズモン共鳴を生じさせる周期構造を設けた検出用の素子の表面に、捕捉体で捕捉した標的物質を、簡単、かつ取扱い性よく、分散させて、高感度な測定を可能とする検出用素子と磁性粒子との組合せを提供することにある。本発明の他の目的は、この検出用素子と磁性粒子との組合せを用いて得られる測定用試料におけるプラズモン共鳴を光学的に検出し得る検出手段を少なくとも用いた装置及び検出方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 9 】

上記に挙げた課題は、以下に示す本発明によって達成することができる。

50

【 0 0 1 0 】

本発明の検体中の標的物質を検出するための素子は、プラズモン共鳴を利用して検体中の標的物質を検出するための素子であって、前記標的物質との結合能を有する捕捉体を保持する金属により被覆された磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面と、該表面に設けられたプラズモン共鳴を生じ得る周期構造と、を有し、前記磁性体粒子が前記基体の前記周期構造を有する表面に固定されたときに、該表面に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を検出し、検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面への前記標的物質の結合に基づく変化から該標的物質の該磁性粒子への結合量を求めるために用いるものであることを特徴とする標的物質検出用の素子である。

【 0 0 1 1 】

10

本発明の検体中の標的物質を検出するための装置は、前記標的物質と、前記標的物質との結合能を有する捕捉体を表面に有する、金属により被覆された磁性粒子とを結合させる手段と、前記磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面にプラズモン共鳴を生じ得る周期構造を設けた基体を有する検出用素子に、磁性粒子を固定するための手段と、前記周期構造に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を光学的に検出するための検出手段と、前記検出手段で検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面へ前記標的物質が結合している場合における変化に基づいて該標的物質の該磁性粒子への結合量を求めるための定量手段と、を有することを特徴とする標的物質検出装置である。

【 0 0 1 2 】

また、本発明の検体中の標的物質を検出する方法は、前記標的物質と、前記標的物質との結合能を有する捕捉体を表面に有する、金属により被覆された磁性粒子とを結合させる工程と、前記磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面にプラズモン共鳴を生じ得る周期構造を設けた基体を有する検出用素子に、前記標的物質が結合した磁性粒子を固定させる工程と、前記標的物質が結合した磁性粒子が固定されている周期構造に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を検出し、検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面への前記標的物質の結合による変化に基づいて前記標的物質の結合量を求める工程とを有することを特徴とする標的物質検出方法である。

20

【 発明の効果 】

【 0 0 1 3 】

本発明によると、標的物質と捕捉体を表面に有する金属により被覆された磁性粒子（金属コート微粒子）を反応させるという容易な手法により、拡散律速を抑え反応効率を向上させることができる。さらに、標的物質と充分に反応した磁性粒子を磁氣的な力を利用して基板に固定化し、感度の高いプラズモン共鳴を利用することにより検出することができる。

30

【 発明を実施するための最良の形態 】

【 0 0 1 4 】

本発明にかかるプラズモン共鳴を利用して検体中の標的物質を検出するための素子は、標的物質との結合能を有する捕捉体を金属被覆層表面に保持する磁性粒子を標的物質の検出用試薬として用いる検出方法に利用されるものであり、基体の表面にこの磁性粒子を磁氣的に固定し得る表面を設け、更にこの表面にプラズモン共鳴を生じさせる周期構造としたものである。この素子には、標的物質との結合能を有する捕捉体を保持する金属被覆層表面を有する微粒子が好ましいものとして含まれる。

40

【 0 0 1 5 】

少なくとも、この検出用素子と、標的物質との結合能を有する捕捉体を表面に有する、金属により被覆された磁性粒子と、によって、前記磁性体粒子が前記基体の前記周期構造を有する表面に固定されたときに、該表面に励起光を入射することで生じたプラズモン共鳴を検出し、検出されたプラズモン共鳴の該磁性体粒子表面への前記標的物質の結合に基づく変化から該標的物質の該磁性粒子への結合量を求めるために用いる標的物質検出用のキットを構成することができる。更に、このキットは検出用素子の周期構造を有する表面に磁性体粒子を固定した状態で、この基体表面に励起光を入射することで生じたプラズモ

50

ン共鳴を検出するための検出手段（必要に応じて検出されたデータの解析を行なうコンピュータなどの解析手段などを有する）を更に有することができる。

【0016】

以下、図を参照しながら本発明に関わる実施形態につき述べる。ここでは本発明を完全に理解してもらうため、特定の実施形態について詳細な説明をおこなうが、本発明はここに記した内容に限定されるものではない。

【0017】

まず本発明の第一の実施形態について、図1～4を参照しながら説明する。

【0018】

<1-1. 標的物質検出用の試薬>

まず、標的物質検出用の試薬としての磁性粒子の構造を、図2を用いて説明する。図2は、磁性粒子を含む液体に標的物質104を添加し、一部の磁性粒子の金属層102上に固定した標的物質捕捉体103に標的物質を捕捉させ、これを検出用素子基体106に適用する段階を示している。標的物質検出用の磁性粒子は、磁性体からなるコア101を金属層102で覆った、コア・シェル構造をとっている。さらに、標的物質捕捉体103が磁性粒子表面を構成する金属層102上に固定されている。ここで、コア101の材料である磁性体としては、鉄、コバルト、ニッケル等の金属またはこれらの酸化物、合金、もしくはこれらの複合体などが用いられるが、本発明では強磁性体が好ましく、超常磁性を持つことが好ましい。一般に、強磁性体材料の粒径が数100～数10nm以下になると低い磁界で飽和を示すにもかかわらず、ヒステリシスを示さず、残留磁化もない超常磁性を示す。そのため、コア101のサイズは前述の超常磁性特性が現れるサイズであることが望ましい。

【0019】

金属層102の素材としては、プラズモン共鳴による検出に適していればよい。すなわちプラズモン共鳴現象が生じうる金属元素であれば、制約はないが、中でも、金、銀、銅、白金、アルミニウム、亜鉛、カリウムなど金属の複素誘電率を $\epsilon = \epsilon_1 + i\epsilon_2$ としたとき、 $|\epsilon_1| > 2$ 、 $\epsilon_2 < 0$ となる金属が好ましい。

【0020】

金属層102の膜厚は、金属層を介しても中の磁気によって捕捉微粒子を捕集可能であれば特に制約はないが、金属層102を含んだ微粒子の寸法が、4nm～300nmの範囲にあることが好ましい。図2では磁性体からなる単一の粒子が、コアを形成している状態を図示しているが、寸法が超常磁性を示す磁性粒子を樹脂等の非磁性材料中に複数分散したものでコアを形成しても構わない。

【0021】

金属層102の表面に固定された標的物質捕捉体103は、標的物質と特異的な結合対を形成するものであれば、特に制約はない。具体的には、抗体、核酸などが挙げられる。このようにして、溶液中に試薬となる標的物質を捕捉する捕捉微粒子を含んだ試薬溶液が作製できる。

捕捉体を有する磁性粒子を分散させる溶液については、特に制限は設けないが、磁性粒子が凝集することなく安定して分散であり、抗原抗体反応やDNAハイブリダイゼーション反応がおこるようなpHである溶液が好ましい。

【0022】

具体的には、検体中に含まれる標的物質は、非生体物質と生体物質に大別される。

【0023】

非生体物質として産業上利用価値の大きいものとしては、環境汚染物質としての塩素置換数/位置の異なるPCB類、同じく塩素置換数/位置の異なるダイオキシン類、いわゆる環境ホルモンと呼ばれる内分泌攪乱物質等が挙げられる。

【0024】

生体物質としては、核酸、タンパク質、糖鎖、脂質及びそれらの複合体から選択される生体物質が含まれ、更に詳しくは、核酸、タンパク質、糖鎖、脂質から選択される生体分

10

20

30

40

50

子を含んでなるものであり、具体的には、DNA、RNA、アプタマー、遺伝子、染色体、細胞膜、ウイルス、抗原、抗体、レクチン、ハプテン、ホルモン、レセプター、酵素、ペプチド、スフィンゴ糖、スフィンゴ脂質の何れかから選択された物質を含むものであれば、如何なる物質にも本発明を適用することができる。更には、前記の「生体物質」を産生する細菌や細胞そのものも、本発明が対象とする「生体物質」として標的物質となり得る。

【0025】

< 1 - 2 . 標的物質検出素子 >

標的物質検出素子を、図1を用いて説明する。標的物質検出素子は、周期的な凹凸構造を有する磁性体からなる表面を有する基体106を有して構成され、この表面に標的物質を捕捉した磁性粒子からなる複合体105が磁気的な相互作用により配置される。図2に示す状態で、標的物質を捕捉した捕捉微粒子と、標的物質を捕捉していない捕捉微粒子と、を含んだ混合溶液201を基体106の周期的な凹凸構造を有する表面に滴下すると、磁気的な相互作用が働き磁性粒子が基体の全面に配置させられ、可視光に対してプラズモン共鳴を検出し得る回折格子として作用する表面が作成される。なお、図2に示すように液媒体中での分散状態で磁性粒子と標的物質の反応が行なわれるので、必要に応じて攪拌などを行なうことで、これらの反応を効率良く行なうことができる。

10

【0026】

基体106は、光の波長と同じ程度のサイズの周期構造を持つように構成されて、プラズモン共鳴を検出し得る構造となっている。具体的には、凹凸が周期的に並んだ表面を磁性材料から形成した基体に形成した構造を利用できる。この基体用の磁性材料としては、鉄、コバルト、ニッケル等の金属またはこれらの酸化物、合金、もしくはこれらの複合体などを用いることができる。また、透磁率の高い材料、例えばフェライト、ガラス、金属酸化物などを用いて基体を形成し、磁性粒子の固定ために磁界を付与して用いる構成としてもよい。ここでは、各材料を適宜選択して用いることが好ましい。

20

【0027】

標的物質を補足した磁性粒子と、補足していない磁性粒子とが、固定化されたそれぞれの回折格子は、標的物質の結合以外のパラメータにその特性が影響されないように分析的な手法を用いて、いくつかの検出素子を標本して、あらかじめ各種検査をすることが望ましい。

30

【0028】

< 1 - 3 . 標的物質検出の原理および方法 >

上記の凹凸構造を有する素子を用いる場合の標的物質検出の原理ならびに検出の方法を、図1～4ならびに図7及び8を用いて説明する。まず、捕捉体を金の被覆層に有する磁性粒子を所望の濃度に調整した溶液を用意する。これを参照用と標的物質検出用に取り分け、図2に示すように標的物質検出用の磁性粒子溶液を標的物質と反応させた後、図3の(a)及び(b)に示すようにそれぞれを検出素子と同量を用いて反応させる。この反応により磁性粒子が基体の周期的構造を有する表面に固定された状態で、参照用の検出素子と標的物質検出用の検出素子に、図1及び図7に示すように、それぞれ偏向させた入射光を照射し、反射光を角度スキャンさせながら反射光の強度を検出する。これにより図8に示すような反射強度の角度依存のスペクトルを得ることが可能であり、磁性粒子に結合した標的物質の濃度を高感度に測定することができる。すなわち、プラズモン共鳴によって反射光強度が減衰する入射角は磁性微粒子に捕捉体を介して捕捉された標的物質の濃度(捕捉量)に応じてシフトするので、この標的物質の濃度(捕捉量)に基づく角度依存のスペクトルの変化から標的物質の濃度(捕捉量)を求めることができる。参照用の検出素子での角度依存のスペクトルに対する反射光強度の減衰ピークの位置を各種濃度の標準サンプルを用いて予め測定して検量線(検量用データ)を作成しておき、そのデータに基づいて測定用サンプルでの減衰ピークのシフト幅から測定用サンプル中の標的物質の検出及び定量を行うことができる。

40

【0029】

50

なお、角度依存のスペクトルは公知の光学的検出装置を用いて測定することができ、更にそのデータの分析は予め作製した検量線を利用するプログラムに基づいてコンピュータにより自動的に行うことが可能である。この自動化は以下の第二の実施形態に持て起用できる。図4に反応から検出及び定量までの各ステップのフローチャートを示す。

【0030】

< 2 - 2 . 標的物質検出素子 >

次に本発明の第二の実施形態について、図5を参照しながら説明する。なお、標的物質検出用の磁性粒子については、第一の実施形態と同様の手法にて作成することができる。

【0031】

標的物質検出素子を、図5を用いて説明する。標的物質検出素子は、透磁率が高く周期的な凹凸構造を持った基体である502の裏面に、磁石501を配置した構成を有する。標的物質を捕捉した複合体105と、標的物質を捕捉していない磁性粒子を含んだ混合溶液201を基体502に滴下すると、磁気的な相互作用が働き磁性粒子が基体の全面に配置され、検出素子503の表面は、可視光に対して回折格子として作用する。

10

【0032】

磁石501としては、電磁石、永久磁石などを用いることが可能である。ここでは、各種磁石が適宜選択されて用いられる。基体502としては、凹凸が周期的に並んだ透磁率の高い材料、表面に凹凸溝が刻んであり透磁率の高い基体を用いられる。具体的には、フェライト、ガラス、パーマロイなどを用いることができる。標的物質の検出は、第一の実施形態と同様の原理・手法にて実施することができる。

20

< 3 - 2 . 標的物質検出素子 >

次に本発明の第三の実施形態について、図6を参照しながら説明する。標的物質検出用の試薬については、第一の実施形態と同様の手法にて作成することができる。

【0033】

標的物質検出素子を、図6を用いて説明する。標的物質検出素子604は、磁性体と非磁性体が周期的に並べられた基体601から構成される。この磁性体部分を有する基体106の表面に、標的物質を捕捉した複合体105と、標的物質を有しない磁性粒子を含んだ混合溶液201を滴下すると、複合体及び磁性粒子が基体106表面の磁性体からなる部分の全面に配置されて、これが可視光に対してプラズモン共鳴を検出し得る回折格子として作用する。

30

【0034】

601は磁性体と非磁性体の多層膜から構成されており、その表面は光の波長の数分の一以下に鏡面研磨され、さらに金属がコートされている構成が好ましい。602は磁性体であり、鉄、コバルト、ニッケル等の金属またはこれらの酸化物、合金、もしくはこれらの複合体を用いることができる。ここでは、フェロ磁性もしくはフェリ磁性を示す材料であることが好ましい。603は非磁性材料であり、 SiO_2 、 Al_2O_3 、などガラス材料や金属酸化物が適宜選択されて用いられる。

【0035】

標的物質の検出は、第一の実施形態と同様の原理・手法にて実施することができる。

【実施例】

40

【0036】

以下、本発明の実施例を述べるが、本発明はここに記述した内容だけに制限を受けるものではない。

【0037】

(実施例 1)

< 磁性粒子作成 >

金で被覆された磁性粒子は、非特許文献1に記載の方法で作成することができる。まず、 Fe_3O_4 粒子を、 Fe(II) 、 Fe(III) の塩化物をアルカリ溶液中におき共沈法で作成する。そして、大気中において Fe_3O_4 を徐々に加熱することで、 Fe_2O_3 粒子が得られる。金は、 Fe_2O_3 の表面で Au^{3+} を還元することにより得られる。上記ブ

50

ロセスにより、直径60nm程度のコア・シェル型微粒子が得られる。

【0038】

本製法で作製したコア・シェル構造の粒子溶液に、金と親和性の高いチオール基を持つ、11-Mercapto undecanoic acidのエタノール溶液を加え微粒子を表面修飾する。その状態で、N-Hydroxysulfosuccinimide（同仁化学研究所社製）水溶液と1-Ethyl-3-[3-dimethylamino]propyl]carbodiimide hydrochloride（同仁化学研究所社製）水溶液を加え、室温で15分間インキュベートする。これにより、微粒子表面にスクシンイミド基が露出される。続いて、固定化する抗体として、標的物質に特異的な抗ヒトインスリンモノクローナル抗体/2-[N-morpholino]ethanesulfonic acid緩衝液（pH6.0）を加え、室温で2時間インキュベートする。金表面上に配置された前記スクシンイミド基と抗ヒトインスリンモノクローナル抗体のアミノ基を反応させることにより、抗ヒトインスリンモノクローナル抗体を微粒子表面上に固定化する。微粒子表面上の未反応のスクシンイミド基は、Hydroxylamine Hydrochlorideを添加して脱離させる。

10

【0039】

以上の工程によって、溶液中で試薬となる標的物質を捕捉する捕捉微粒子を含んだ試薬溶液が作製できる。

【0040】

< 標的物質との反応 >

20

まず、上記試薬溶液を参照用と測定用に同じ量ずつ取り分ける。測定用の試薬溶液に、標的物質であるインスリンを混入させ反応させる。スターラーで攪拌することにより、反応を促進することが可能である。

【0041】

< 標的物質検出素子の作成 >

図3を参照しながら説明する。周期550nm、振幅50nmサイズ、面積3mm²の回折格子型の基体106を電子線リソグラフィーにより作製する。参照用の試薬溶液と、インスリンを混入し反応させた試薬溶液とを、参照用と、検出用それぞれの基体に滴下して、磁気的な相互作用により、基体106に固定化させ回折格子として作用する参照用の基体と測定用の基体を作成する。ここでは、回折格子型の基体を電子線リソグラフィーにより作製したが、光干渉露光などの手法を用いても作製することが可能である。 < 標的物質検出 >

30

図7を参照しながら説明する。光源701としては、レーザーダイオード（三洋電機、DL3038-033）を用い、702のコリメートレンズとしては、平凸レンズ（シグマ光機、平凸レンズ5mm）を用い、703の偏光フィルターとしては可視光偏光フィルター（シグマ光機、SPF-30C-32）を用い、これら入射光学系を常盤の上に固定する。集光レンズ704としては、平凸レンズ（シグマ光機、平凸レンズ5mm）を用い、光センサー705としてはパワーメータ（アドバンテスト、TQ8210）を用い、アーム706に固定する。ゴニオメータ707としては、2軸小型自動回転ステージ（シグマ光機、SKIDS-60YAW（z）-A（Ver2.0））を用いる。ゴニオメータの中心に標的物質検出素子107を設置し、回転盤とアームを同期させながら回転させることにより、反射光の角度スペクトルを測定することができる。参照用の検出素子（a）と標的物質と反応させた検出素子（b）をそれぞれ測定することにより、図8に示すような反射強度の角度依存のスペクトルを得ることが可能であり、微粒子に結合したインスリンの濃度を高感度に測定することができる。

40

【0042】

（実施例2）

実施例1で示した方法と同様の方法で、捕捉微粒子を含んだ試薬溶液を作製ならびに標的物質との反応をおこなうことが可能である。

【0043】

50

< 標的物質検出素子の作成 >

上記参照用の試薬溶液と、インスリンを混入し反応させた試薬溶液を用意し、それぞれの基体に滴下して磁気的な相互作用により、基体 5 0 2 に固定化させ回折格子として作用する参照用の基体と測定用の基体を作成する。

< 標的物質検出 >

参照用の検出素子 (a) と標的物質と反応させた検出素子 (b) を、図 7 に示す装置でそれぞれ測定することにより、図 8 に示すような反射強度の角度依存のスペクトルを得ることが可能であり、微粒子に結合したインスリンの濃度を高感度に測定することができる。

【 0 0 4 4 】

10

(実施例 3)

実施例 1 で示した方法と同様の方法で、捕捉微粒子を含んだ試薬溶液を作製ならびに標的物質との反応をおこなうことが可能である。

【 0 0 4 5 】

< 標的物質検出素子の作成 >

上記参照用の試薬溶液と、インスリンを混入し反応させた試薬溶液を用意し、それぞれの基体に滴下して磁気的な相互作用により、基体 6 0 1 に固定化させ回折格子として作用する参照用の基体と測定用の基体を作成する。

【 0 0 4 6 】

< 標的物質検出 >

20

参照用の検出素子 (a) と標的物質と反応させた検出素子 (b) を、図 7 に示す装置でそれぞれ測定することにより、図 8 に示すような反射強度の角度依存のスペクトルを得ることが可能であり、微粒子に結合したインスリンの濃度を高感度に測定することができる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 4 7 】

【 図 1 】 本発明の実施形態 1 を表す図である。

【 図 2 】 本発明の実施形態 1 を説明するための図である。

【 図 3 】 本発明の実施形態 1 を説明するための図である。

【 図 4 】 本発明の実施形態 1 を説明するための図である。

30

【 図 5 】 本発明の実施形態 2 を表す図である。

【 図 6 】 本発明の実施形態 3 を表す図である。

【 図 7 】 本発明の実施例 1 ~ 3 を表す図である。

【 図 8 】 本発明の実施例を説明するための図である。

【 符号の説明 】

【 0 0 4 8 】

1 0 1 磁性粒子

1 0 2 金

1 0 3 捕捉体

1 0 4 標的物質

40

1 0 5 複合体

1 0 6 基体

1 0 7 標的物質検出素子

2 0 1 検体溶液

3 0 1 緩衝液

5 0 1 磁石

5 0 2 基体

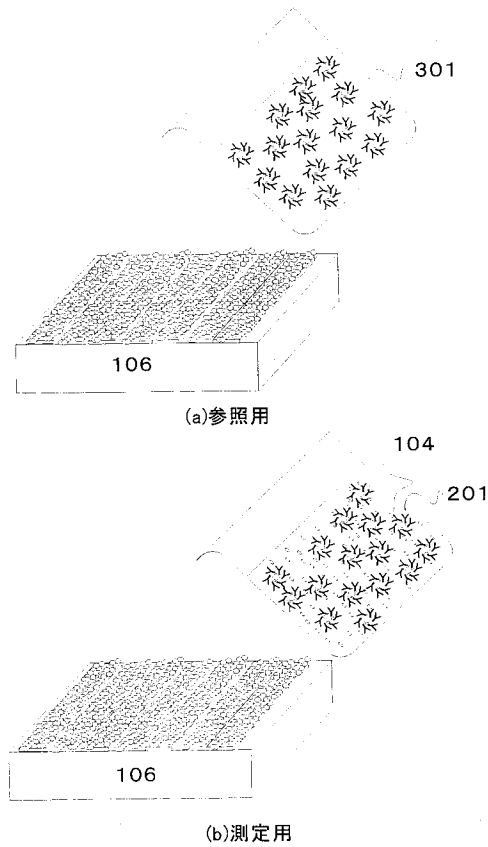
5 0 3 標的物質検出素子

6 0 1 基体

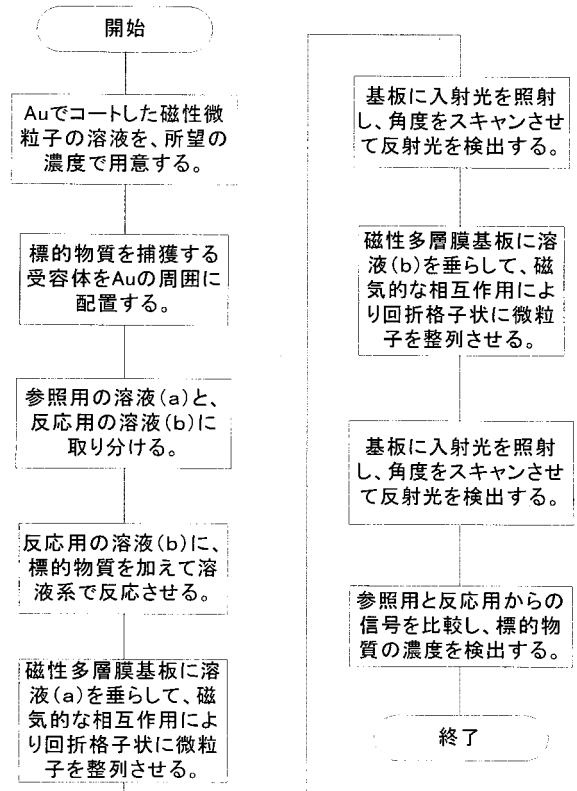
6 0 2 磁性体

50

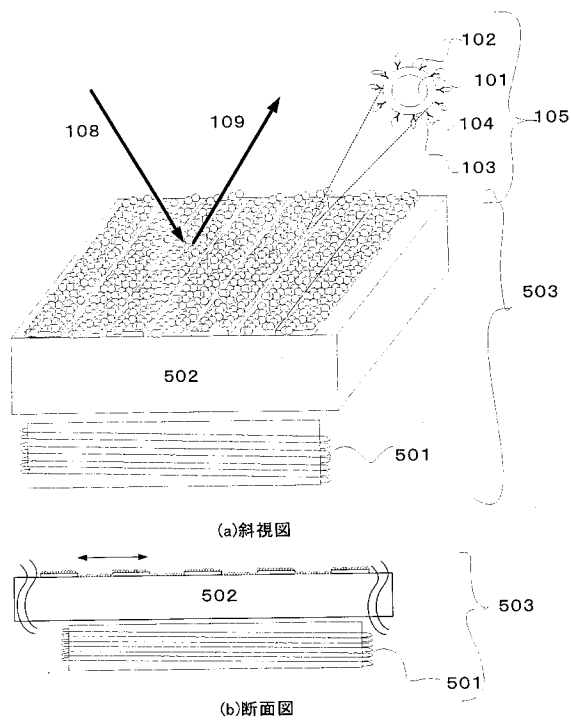
【図 3】



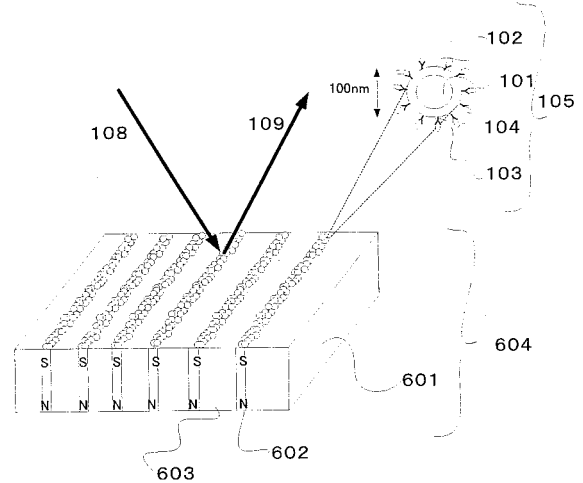
【図 4】



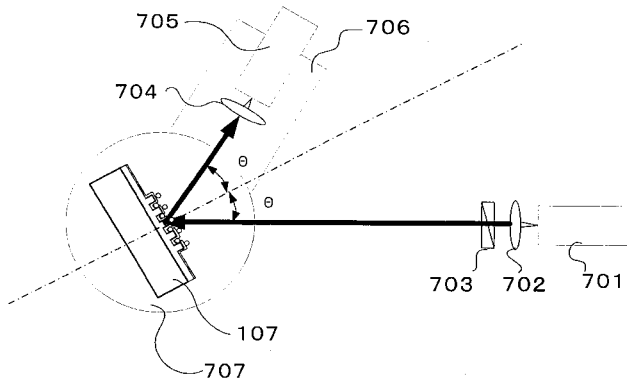
【図 5】



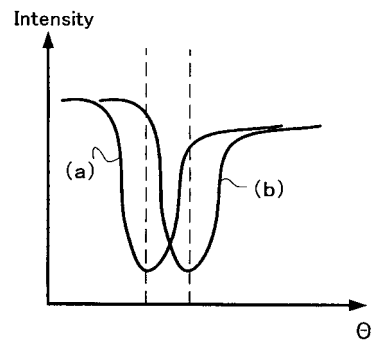
【図 6】



【図 7】



【図 8】



フロントページの続き

(72)発明者 池田 貴司

東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キヤノン株式会社内

Fターム(参考) 2G059 AA01 BB04 CC16 CC17 DD13 DD20 EE02 FF08 FF12 GG01

GG02 HH02 JJ11 JJ19 MM12