



- (51) 国際特許分類 :  
G01N 35/02 (2006.01) G01N 33/543 (2006.01)  
G01N 1/38 (2006.01) G01N 35/10 (2006.01)  
G01N 21/64 (2006.01)
- (21) 国際出願番号 : PCT/JP20 16/070047
- (22) 国際出願日 : 2016年7月6日 (06.07.2016)
- (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 2015-136022 2015年7月7日 (07.07.2015) JP
- (71) 出願人 : コニカミノルタ株式会社 (KONICA MIN-  
OLTA, INC.) [JP/JP]; 〒1007015 東京都千代田区丸  
の内二丁目7番2号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者 : 青木 洋一 (AOKI, Youichi).
- (74) 代理人 : 鷲田 公一 (WASHIDA, Kimihito); 〒  
1600023 東京都新宿区西新宿1-23-7 新  
宿ファーストウエスト8階 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保  
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,  
BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN,  
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES,  
FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN,  
IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR,  
LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,  
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH,  
PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,  
SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,  
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

[続葉有]

(54) Title: DETECTION DEVICE AND DETECTION METHOD

(54) 発明の名称 検出装置および検出方法

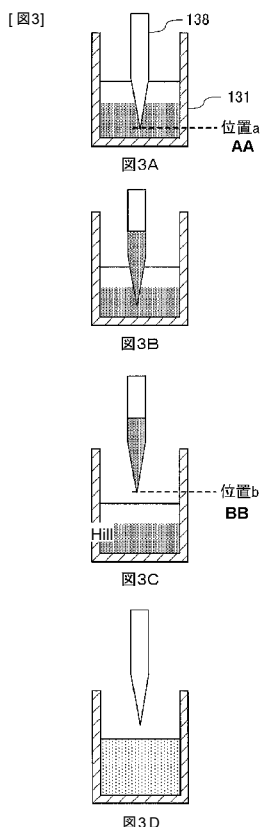


FIG. 3:  
AA Position a  
BB Position b

(57) Abstract: A detection device for detecting a substance to be detected contained in a specimen has a pipette that has a detachable pipette tip and that suctions or discharges a specimen in a container, a pipette-moving unit for moving the pipette, and a control unit for controlling the pipette and pipette-moving unit. The control unit controls the pipette and the pipette-moving unit so that the pipette suctions a portion of specimen in the container with the pipette-moving unit having moved the distal end of the pipette tip to a position (a) in the lower side of the container, and thereafter discharges in the container the specimen suctioned by the pipette to stir the specimen with the pipette-moving unit having moved the distal end of the pipette tip to a position (b) above the position (a).

(57) 要約: 検体に含まれる被検出物質を検出する検出装置は、ピペットチップが着脱可能であり、容器内の検体を吸引または吐出するピペットと、ピペットを移動させるピペット移動部と、ピペットおよびピペット移動部を制御する制御部とを有し、ピペット移動部がピペットチップの先端を容器の下方側の位置 a まで移動させた状態でピペットが容器内の少なくとも一部の検体を吸引した後、ピペット移動部がピペットチップの先端を位置 a よりも上の位置 b まで移動させた状態でピペットが吸引した検体を前記容器内に吐出して検体を攪拌するように、制御部がピペットおよびピペット移動部を制御する。

WO 2017/006969 A1



(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可<sup>△</sup>): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

## 明 細 書

発明の名称 : 検出装置および検出方法

## 技術分野

[0001] 本発明は、検出装置および検出方法に関する。

## 背景技術

[0002] 臨床検査などにおいて、血液などの検体中のタンパク質やDNAなどの微量の被検出物質を高感度かつ定量的に検出できれば、患者の状態を迅速に把握して治療を行うことが可能となる。このため、検体中の微量の被検出物質を高感度かつ定量的に検出できる方法および装置が求められている。

[0003] 検体中の被検出物質を高感度に検出できる方法として、表面プラズモン共鳴 (Surface Plasmon Resonance :以下「SPR」と略記する)法および表面プラズモン励起増強蛍光分光法 (Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy :以下「SPFS」と略記する)が知られている。これらの方法では、所定の条件で光を金属膜に照射すると表面プラズモン共鳴 (SPR) が生じることを利用する (例えば特許文献1参照)。

[0004] たとえば、SPFSでは、被検出物質に特異的に結合できる捕捉体 (例えば1次抗体)を金属膜上に固定化して、被検出物質を特異的に捕捉するための反応場を形成する。この反応場に被検出物質を含む検体 (例えば血液)を提供すると、被検出物質は反応場に結合する。次いで、蛍光物質で標識された捕捉体 (例えば2次抗体)を反応場に提供すると、反応場に結合した被検出物質は蛍光物質で標識される。この状態で金属膜に励起光を照射すると、被検出物質を標識する蛍光物質は、SPRにより増強された電場により励起され、蛍光を放出する。したがって、蛍光を検出することで、被検出物質の存在またはその量を検出することができる。SPFSでは、SPRにより増強された電場により蛍光物質を励起するため、高感度で被検出物質を検出することができる。

[0005] 一方、SPR法やSPFSなどに限らず、各種検出方法で液体中の被検出

物質を測定する場合、通常、検出値は、液体の単位体積当たりの被検出物質の質量や、それに相当するシグナル量などで示される。したがって、検体として血液を用いる場合、検出値は、血液中の液体成分（血漿または血清）の単位体積当たりの被検出物質の質量や、それに相当するシグナル量などで示される。血液中の液体成分の割合は個々人で異なるため、血液の検出値を一律に液体成分の検出値に変換することはできない。このため、検体として血液を用いる場合は、その血液のヘマトクリット値（血液中の血球の体積の割合）を別途測定し、ヘマトクリット値を用いて血液の検出値を液体成分（血漿または血清）の検出値に変換することが行われている。

[0006] また、血液は一定時間放置されると血球が沈降しやすい。したがって、ユーザーが血液を容器にセットした後、検出を行うまでの時間が長いと、血球が沈降し、血液を採取する位置によってヘマトクリット値が変動しやすい。その結果、採取された血液中のヘマトクリット値も本来の値とは異なり、液体成分中の被検出物質の量を正しく検出できないことがある。

[0007] 血球の沈降を抑制するためには、検出を行う前に、血液を攪拌することが有効と考えられる。攪拌機構を有する装置として、試薬搬送用のピペットチップの先端を容器の底面近傍に固定した状態で、検体の吸引・吐出を繰り返すことにより検体を攪拌する免疫検査装置が知られている（例えば特許文献2参照）。

## 先行技術文献

### 特許文献

- [0008] 特許文献1 :特開平 10 — 3 0 7 1 4 1 号公報  
特許文献2 :国際公開第 1 9 9 7 / 4 4 6 7 1 号

## 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0009] しかしながら、特許文献2に示されるような攪拌方法では、十分な攪拌効果が得られない。

[001 0] また、ユーザーが容器にセットする検体の量とピペットチップの容量とが大きく異なる場合、以下のような問題が発生する。例えば、100 $\mu$ L吸引可能なピペットチップを用いる場合に、容器にセットされた検体の量が500 $\mu$ Lであると、100 $\mu$ Lだけ吸引吐出を行っても検体はほとんど攪拌されない。一方、500 $\mu$ L吸引可能なピペットチップを用いる場合に、容器にセットされた検体の量が100 $\mu$ Lしかない、空気も吸引しやすい。そのため、攪拌によって容器内に気泡が多量に混入し、検体を採取する際の定量性が確保できない。さらに、500 $\mu$ L吸引可能なピペットチップを用いると、装置が大型化するという問題もある。このように、容器にセットされる検体の量とピペットチップの容量とが大きく異なる場合であっても、容器内の検体を十分に攪拌できることが望まれる。

[001 1] 本発明の目的は、検体を十分に攪拌することができ、検体に含まれる被検出物質を正確に検出できる検出装置および検出方法を提供することである。

#### 課題を解決するための手段

[001 2] 上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る検出装置は、検体に含まれる被検出物質を検出する検出装置であって、ピペットチップが着脱可能であり、容器内の検体を吸引または吐出するピペットと、前記ピペットを移動させるピペット移動部と、前記ピペットおよび前記ピペット移動部を制御する制御部と、を有し、前記ピペット移動部が前記ピペットチップの先端を前記容器の下方側の位置aまで移動させた状態で前記ピペットが前記容器内の少なくとも一部の検体を吸引した後、前記ピペット移動部が前記ピペットチップの先端を前記位置aよりも上の位置bまで移動させた状態で前記ピペットが吸引した検体を前記容器内に吐出して前記検体を攪拌するように、前記制御部が前記ピペットおよび前記ピペット移動部を制御する。

[001 3] 上記課題を解決するため、本発明の一実施の形態に係る検出方法は、ピペットに装着されたピペットチップの先端を検体が収容された容器の下方側の位置aまで移動させた状態で前記ピペットが前記容器内の検体の少なくとも一部を吸引した後、前記ピペットチップの先端を前記位置aよりも上の位置

b まで移動させた状態で前記ピペットが吸引した検体を吐出して前記容器内の検体を攪拌する工程と、攪拌された検体に含まれる被検出物質を検出する工程とを含む。

## 発明の効果

[0014] 本発明によれば、検体を十分に攪拌することができ、検体に含まれる被検出物質を正確に検出できる検出装置および検出方法を提供することができる。

## 図面の簡単な説明

- [0015] [図1] 図1は、本実施の形態に係るS P F S装置の構成を示す模式図である。
- [図2] 図2は、本実施の形態に係るS P F S装置の動作手順の一例を示すフローチャートである。
- [図3] 図3 A ~ Dは、本実施の形態に係る攪拌工程の一例を示す模式図である。
- [図4] 図4 Aは、容器内で血液を放置した時間と、放置後に容器の下方側から採取した血液のヘマトクリット値との関係の一例を示すグラフであり、図4 Bは、容器内で血液を放置した時間と、放置後に容器の下方側から採取した血液中のシグナル値との関係の一例を示すグラフである。
- [図5] 図5は、容器内での血液を放置した時間と、容器の下方側から採取した血液中のヘマトクリット値との関係の一例を示すグラフである。
- [図6] 図6は、回折格子を含む金属膜の斜視図である。

## 発明を実施するための形態

[0016] 以下、本発明の一実施の形態について、図面を参照して詳細に説明する。本発明に係る検出装置の代表例として、表面プラズモン励起増強蛍光分光法 (Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy :以下「S P F S」と略記する) を利用した検出装置 (S P F S装置) について説明する。

[0017] [S P F S装置および検出チップの構成]

図1は、本実施の形態に係るS P F S装置100の構成を示す模式図であ

る。図 1 に示されるように、3 P 「3 装置 1 0 0 は、光照射部 1 1 0、光検出部 1 2 0、送液部 1 3 0、搬送部 1 4 0 および制御部 1 5 0 を有する。S P F S 装置 1 0 0 は、搬送部 1 4 0 のチップホルダー (ホルダー) 1 4 2 に検出チップ 1 0 を装着した状態で使用される。そこで、先に検出チップ 1 0 について説明し、その後 S P F S 装置 1 0 0 について説明する。

[001 8] (検出チップ)

検出チップ 1 0 は、入射面 2 1、成膜面 2 2 および出射面 2 3 を有するプリズム 2 0 と、成膜面 2 2 上に配置され、被検出物質を補足するための捕捉体が固定化された金属膜 3 0 と、金属膜 3 0 上に配置された流路蓋 4 0 とを有する。検出チップ 1 0 は、好ましくは各片の長さが数 m m - 数 c m の構造物であるが、「チップ」の範疇に含まれないようなより小型の構造物、またはより大型の構造物であつてもよい。

[001 9] プリズム 2 0 は、励起光  $\alpha$  に対して透明な誘電体からなる。プリズム 2 0 は、入射面 2 1、成膜面 2 2 および出射面 2 3 を有する。入射面 2 1 は、光照射部 1 1 0 からの励起光  $\alpha$  をプリズム 2 0 の内部に入射させる。成膜面 2 2 上には、金属膜 3 0 が配置されている。プリズム 2 0 の内部に入射した励起光  $\alpha$  は、金属膜 3 0 の裏面で反射されて反射光 (不図示) となる。より具体的には、励起光  $\alpha$  は、プリズム 2 0 と金属膜 3 0 との界面 (成膜面 2 2) で反射されて反射光となる。出射面 2 3 は、反射光をプリズム 2 0 の外部に出射させる。

[0020] プリズム 2 0 の形状は、特に限定されない。本実施の形態では、プリズム 2 0 の形状は、台形を底面とする柱体である。台形の一方の底辺に対応する面が成膜面 2 2 であり、一方の脚に対応する面が入射面 2 1 であり、他方の脚に対応する面が出射面 2 3 である。底面となる台形は、等脚台形であることが好ましい。これにより、入射面 2 1 と出射面 2 3 とが対称になり、励起光  $\alpha$  の S 波成分がプリズム 2 0 内に滞留しにくくなる。

[0021] 入射面 2 1 は、励起光  $\alpha$  が光照射部 1 1 0 に戻らないように形成される。励起光  $\alpha$  の光源がレーザーダイオード (以下 「LD」 ともいう) である場合

、励起光  $\alpha$  が LD に戻ると、LD の励起状態が乱れてしまい、励起光  $\alpha$  の波長や出力が変動してしまう。そこで、理想的な共鳴角または増強角を中心とする走査範囲において、励起光  $\alpha$  が入射面 2 1 に垂直に入射しないように、入射面 2 1 の角度が設定される。

[0022] ここで「共鳴角」とは、金属膜 3 0 に対する励起光  $\alpha$  の入射角を走査した場合に、出射面 2 3 から出射される反射光の光量が最小となるときの、入射角を意味する。また、「増強角」とは、金属膜 3 0 に対する励起光  $\alpha$  の入射角を走査した場合に、検出チップ 1 0 の上方に放出される励起光  $\alpha$  と同一波長の散乱光（以下「プラズモン散乱光」という）A の光量が最大となるときの、入射角を意味する。本実施の形態では、入射面 2 1 と成膜面 2 2 との角度および成膜面 2 2 と出射面 2 3 との角度は、いずれも約  $80^\circ$  である。

[0023] なお、検出チップ 1 0 の設計により、共鳴角（およびその極近傍にある増強角）が概ね決まる。設計要素は、プリズム 2 0 の屈折率や、金属膜 3 0 の屈折率、金属膜 3 0 の膜厚、金属膜 3 0 の消衰係数、励起光  $\alpha$  の波長などである。金属膜 3 0 上に捕捉された被検出物質によって共鳴角および増強角がシフトするが、その量は数度未満である。

[0024] プリズム 2 0 は、複屈折特性を少なからず有する。プリズム 2 0 の材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。プリズム 2 0 の材料は、好ましくは、屈折率が  $1.4 \sim 1.6$  であり、かつ複屈折が小さい樹脂である。

[0025] 金属膜 3 0 は、プリズム 2 0 の成膜面 2 2 上に配置されている。これにより、成膜面 2 2 に全反射条件で入射した励起光  $\alpha$  の光子と、金属膜 3 0 中の自由電子との間で表面プラズモン共鳴（Surface Plasmon Resonance :以下「SPR」と略記する）が生じ、金属膜 3 0 の表面上に局在場光（一般に「エバネッセント光」または「近接場光」とも呼ばれる）を生じさせることができる。本実施の形態では、金属膜 3 0 は、成膜面 2 2 の全面に形成されている。

[0026] 金属膜 3 0 の材料は、表面プラズモン共鳴を生じさせうる金属であれば特に限定されない。金属膜 3 0 の材料の例には、金、銀、銅、アルミニウム、



これらの合金が含まれる。本実施の形態では、金属膜 30 は、金薄膜である。金属膜 30 の形成方法は、特に限定されない。金属膜 30 の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、メッキが含まれる。金属膜 30 の厚みは、特に限定されないが、30 - 70 nm の範囲内が好ましい。

[0027] 金属膜 30 のプリズム 20 と対向しない面には、被検出物質を補足するための捕捉体が固定化されている。捕捉体の種類は、被検出物質を捕捉することができれば特に限定されない。たとえば、捕捉体は、被検出物質に特異的に結合する抗体またはその断片である。また、乾燥による変性を防止する観点から、通常、捕捉体は、検出チップ 10 の未使用時において保護層により保存される。

[0028] 流路蓋 40 は、金属膜 30 上に配置されている。金属膜 30 がプリズム 20 の成膜面 22 の一部にのみ形成されている場合、流路蓋 40 は、成膜面 22 上に配置されていてもよい。本実施の形態では、流路蓋 40 は、金属膜 30 の上に配置されている。金属膜 30 上に流路蓋 40 を配置することで液体を収容するための収容部（微小空間）が形成される。収容部の形状や大きさなどは、液体を収容することができれば特に限定されない。たとえば、収容部は、液体を収容するウエルであってもよいし、液体が連続して供給される流路であってもよい。本実施の形態では、収容部は、液体が流れる流路 41 である。流路 41 は、裏面に流路溝が形成された流路蓋 40 が、金属膜 30（およびプリズム 20）上に配置されることで形成されている。流路 41 の底面には、被検出物質を補足するための捕捉体が固定化された金属膜 30 が露出している。流路 41 の両端は、流路蓋 40 の上面に形成された不図示の注入口および排出口とそれぞれ接続されている。

[0029] 流路蓋 40 は、金属膜 30 上から放出される蛍光  $\beta$  およびプラズモン散乱光  $\alpha$  に対して透明な材料からなることが好ましい。流路蓋 40 の材料の例には、ガラスおよび樹脂が含まれる。蛍光  $\beta$  およびプラズモン散乱光  $\alpha$  を外部に取り出す部分が蛍光  $\beta$  およびプラズモン散乱光  $\alpha$  に対して透明であれば、流路蓋 40 の他の部分は、不透明な材料で形成されていてもよい。流路蓋 4

0 は、例えば、両面テープや接着剤などによる接着や、レーザー溶着、超音波溶着、クランプ部材を用いた圧着などにより金属膜 30 またはプリズム 20 に接合されている。

[0030] 検出チップ 10 の金属膜 30 に対して励起光  $\alpha$  を SPR が生じる角度で照射することで、金属膜 30 上に局在場光を生じさせることができる。局在場光により、金属膜 30 上に存在する被検出物質を標識する蛍光物質が励起され、蛍光  $\beta$  が金属膜 30 の流路 41 側の面の近傍から放出される。SPFS 装置 100 は、蛍光物質から放出された蛍光  $\beta$  の光量を測定することで、被検出物質を測定することができる。

[0031] (SPFS 装置)

次に、SPFS 装置 100 の各構成要素について説明する。前述のとおり、SPFS 装置 100 は、光照射部 110、光検出部 120、送液部 130、搬送部 140 および制御部 150 を有する。

[0032] 光照射部 110 は、チップホルダー 142 に保持された検出チップ 10 に励起光  $\alpha$  を照射する。蛍光  $\beta$  またはプラズモン散乱光  $\gamma$  の検出時には、光照射部 110 は、金属膜 30 で SPR が発生するように、金属膜 30 に対する P 波のみを入射面 21 に向けて出射する。ここで「励起光」とは、金属膜 30 上にプラズモン散乱光  $\gamma$  を生じさせる光であり、蛍光物質を直接もしくは間接的に励起させる光でもある。光照射部 110 は、光源ユニット 111、角度調整部 112 および光源制御部 113 を含む。

[0033] 光源ユニット 111 は、コリメートされ、かつ波長および光量が一定の光を、金属膜 30 の裏面における照射スポットの形状が略円形となるように出射する。光源ユニット 111 は、例えば、光源、ビーム整形光学系、APC 機構および温度調整部（いずれも不図示）を含む。

[0034] 光源の種類は、特に限定されず、例えばレーザーダイオード (LD) である。光源の他の例には、発光ダイオードや水銀灯などのレーザー光源が含まれる。光源から出射される励起光  $\alpha$  がビームでない場合は、励起光  $\alpha$  は、レンズや鏡、スリットなどによりビームに変換される。また、光源から出射さ

れる励起光 $\alpha$ が単色光でない場合は、励起光 $\alpha$ は、回折格子などにより単色光に変換される。さらに、光源から出射される励起光 $\alpha$ が直線偏光でない場合は、励起光 $\alpha$ は、偏光子などにより直線偏光の光に変換される。

[0035] ビーム整形光学系は、例えば、コリメーターやバンドパスフィルター、直線偏光フィルター、半波長板、スリット、ズーム手段などを含む。ビーム整形光学系は、これらのすべてを含んでいてもよいし、一部を含んでいてもよい。コリメーターは、光源から出射された励起光 $\alpha$ をコリメートする。バンドパスフィルターは、光源から出射された励起光 $\alpha$ を中心波長のみの狭帯域光にする。光源から出射された励起光 $\alpha$ は、若干の波長分布幅を有しているためである。直線偏光フィルターは、光源から出射された励起光 $\alpha$ を完全な直線偏光の光にする。半波長板は、金属膜30にP波成分が入射するように光の偏光方向を調整する。スリットおよびズーム手段は、金属膜30の裏面における照射スポットの形状が所定サイズの円形となるように、光源から出射された励起光 $\alpha$ のビーム径や輪郭形状などを調整する。

[0036] APC機構は、光源の出力が一定となるように光源を制御する。より具体的には、APC機構は、励起光 $\alpha$ から分岐させた光の光量を不図示のフォトダイオードなどで検出する。そして、APC機構は、帰回路で投入エネルギーを制御することで、光源の出力を一定に制御する。

[0037] 温度調整部は、例えば、ヒーターやペルチエ素子などである。光源から出射された励起光 $\alpha$ の波長およびエネルギーは、温度によつて変動することがある。このため、温度調整部で光源の温度を一定に保つことにより、光源から出射された励起光 $\alpha$ の波長およびエネルギーを一定に制御する。

[0038] 角度調整部112は、金属膜30（プリズム20と金属膜30との界面（成膜面22））に対する、光源から出射された励起光 $\alpha$ の入射角を調整する。角度調整部112は、プリズム20を介して金属膜30の所定の位置に向けて所定の入射角で光を照射するために、光源から出射された励起光 $\alpha$ の光軸とチップホルダー142とを相対的に回転させる。

[0039] たとえば、角度調整部112は、光源ユニット111を光源から出射され

た励起光 $\alpha$ の光軸と直交する軸（図1の紙面に対して垂直な軸）を中心として回転させる。このとき、入射角を走査しても金属膜30上での照射スポットの位置がほとんど変化しないように、回転軸の位置を設定する。特に、回転中心の位置を、入射角の走査範囲の両端における2つの光源から出射された励起光 $\alpha$ の光軸の交点近傍（成膜面22上の照射位置と入射面21との間）に設定することで、照射位置のズレを極小化することができる。

[0040] 前述のとおり、金属膜30に対する光源から出射された励起光 $\alpha$ の入射角のうち、プラズモン散乱光 $\beta$ の光量が最大となる角度が増強角である。光源から出射された励起光 $\alpha$ の入射角を増強角またはその近傍の角度に設定することで、高強度の蛍光 $\beta$ およびプラズモン散乱光 $\beta$ を検出することが可能となる。プリズム20の材料および形状、金属膜30の膜厚、流路41内の液体の屈折率などにより、光源から出射された励起光 $\alpha$ の基本的な入射条件が決まるが、流路41内の捕捉体の種類および量、プリズム20の形状誤差などにより、最適な入射条件はわずかに変動する。このため、測定ごとに最適な増強角を求めることが好ましい。

[0041] 光源制御部113は、光源ユニット111に含まれる各種機器を制御して、光源ユニット111からの励起光 $\alpha$ の出射を制御する。光源制御部113は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

[0042] 光検出部120は、光照射部110が金属膜30へ光を照射することにより検出チップ10から放出される光を検出する。光検出部120は、流路41を通過したプラズモン散乱光 $\beta$ と、光照射部110が検出チップ10の金属膜30へ励起光 $\alpha$ を照射したときに反応場の蛍光物質から放出された蛍光 $\beta$ とを検出する。光検出部120は、受光光学系ユニット121、位置切り替え部122およびセンサー制御部123を含む。

[0043] 受光光学系ユニット121は、検出チップ10の金属膜30の法線方向に配置される。受光光学系ユニット121は、第1レンズ124、光学フィルター125、第2レンズ126および受光センサー127を含む。

- [0044] 第1レンズ124は、例えば、集光レンズであり、金属膜30上から出射される光を集光する。第2レンズ126は、例えば、結像レンズであり、第1レンズ124で集光された光を受光センサー127の受光面に結像させる。両レンズの間の光路は、略平行な光路になっている。光学フィルター125は、両レンズの間に配置されている。
- [0045] 光学フィルター125は、蛍光成分のみを受光センサー127に導き、高いS/N比で蛍光 $\beta$ を検出するために、励起光成分（プラズモン散乱光 $\alpha$ ）を除去する。光学フィルター125の例には、励起光反射フィルター、短波長カットフィルターおよびバンドパスフィルターが含まれる。光学フィルター125は、例えば、所定の光成分（所定の波長成分の光）を反射する多層膜を含むフィルター、または所定の光成分を吸収する色ガラスフィルターである。
- [0046] 受光センサー127は、蛍光 $\beta$ およびプラズモン散乱光 $\alpha$ を検出する。受光センサー127は、微量の被検出物質からの微弱な蛍光 $\beta$ を検出することが可能な、高い感度を有する。受光センサー127は、例えば、光電子増倍管（PMT）やアバランシェフォトダイオード（APD）などである。
- [0047] 位置切替え部122は、光学フィルター125の位置を、受光光学系ユニット121における光路上または光路外に切り替える。具体的には、受光センサー127が蛍光 $\beta$ を検出する時には、光学フィルター125を受光光学系ユニット121の光路上に配置し、受光センサー127がプラズモン散乱光 $\alpha$ を検出する時には、光学フィルター125を受光光学系ユニット121の光路外に配置する。
- [0048] センサー制御部123は、受光センサー127の出力値の検出や、検出した出力値による受光センサー127の感度の管理、適切な出力値を得るための受光センサー127の感度の変更、などを制御する。センサー制御部123は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。
- [0049] 送液部130は、チップホルダー142に保持された検出チップ10の流

路 4 1 内に、検体、標識液、および洗浄液などの各種液体を供給する。送液部 1 3 0 は、一定時間放置したときに濃度分布を生じやすい検体を用いる場合、さらに容器 1 3 1 内の検体を攪拌することが好ましい。送液部 1 3 0 は、容器 1 3 1 内の液体を吸引または吐出するピペット 1 3 2 と、ピペット 1 3 2 を移動させるピペット移動部 1 3 3 と、送液ポンプ駆動部 1 3 4 とを含む。

[0050] 容器 1 3 1 は、各種液体を収容する容器である。容器 1 3 1 としては、通常、複数の容器が液体の種類に応じて配置されるが、または複数の容器が一体化したチップが配置される。

[0051] 容器 1 3 1 に収容される液体の例には、被検出物質を含む検体（例えば、血液、血液の希釈液、血清、血漿、尿、鼻孔液、唾液、精液など）、蛍光物質で標識された捕捉体を含む標識液、洗浄液（緩衝液）、装置校正用のモデリング液（比重の異なる複数種類の緩衝液の混合液）などが含まれる。血液を希釈するための液体の例には、リン酸緩衝液（PBS）、Tris[tris(hydroxymethyl)aminomethane]（TBS :Tris-Buffered Saline）、HEPES [2-[4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl]ethanesulfonic acid]などが挙げられる。また、これらの液体に、界面活性剤 tween20 をさらに添加したものを使用する場合もある。

[0052] ピペット 1 3 2 は、シリンジ 1 3 5 と、シリンジ 1 3 5 内を往復動作可能なプランジャー 1 3 6 と、シリンジ 1 3 5 に接続されたピペットノズル 1 3 7 とを含む。プランジャー 1 3 6 の往復運動によって、液体の吸引および吐出が定量的に行われる。ピペットノズル 1 3 7 には、ピペットチップ 1 3 8 が装着される。

[0053] ピペット移動部 1 3 3 は、ピペット 1 3 2 またはピペットノズル 1 3 7 を、ピペット 1 3 2 の軸方向（例えば鉛直方向）と軸方向を横断する方向（例えば水平方向）とに自在に移動させる。ピペット移動部 1 3 3 は、例えばロボットアーム、2軸ステージまたは上下動自在なターンテーブルによって構成される。

- [0054] 送液ポンプ駆動部 134 は、ブランジャー 136 を往復移動させて、ピペット 132 に液体を吸引または吐出させる。送液ポンプ駆動部 134 は、例えば、ステッピングモーターを含む。ステッピングモーターを含む駆動装置は、ピペット 132 の送液量や送液速度を管理できるため、検出チップ 10 の残液量を管理する観点から好ましい。
- [0055] 送液部 130 は、容器 131 から吸引した液体を検出チップ 10 の流路 41 に供給する。また、液体を検出チップ 10 の流路 41 に供給した後、ブランジャー 136 を動かすことで、流路 41 内で液体を往復させて、流路 41 内の液体を攪拌することができる。それにより、流路 41 内で液体の濃度分布を均一にしたり、流路 41 内における反応（例えば、1次反応および2次反応）を促進したりすることができる。このような操作を行う観点から、検出チップ 10 の注入口は多層フィルムで保護されており、かつピペットチップ 138 がこの多層フィルムを貫通した時に注入口を密閉できるように、検出チップ 10 およびピペット 132 が構成されていることが好ましい。
- [0056] 流路 41 内の液体は、再びピペット 132 で吸引され、容器 131 などに排出される。これらの動作の繰り返しにより、各種液体による反応、洗浄などを実施し、流路 41 内に、蛍光物質で標識された被検出物質などを配置することができる。
- [0057] 送液部 130 は、一定時間放置したときに濃度分布を生じやすい検体を用いる場合、さらに容器 131 内の検体を攪拌することが好ましい。
- [0058] 一定時間放置したときに濃度分布を生じやすい検体とは、比重の異なる複数種類の物質（固体/液体、液体/液体）を含む検体でありうる。そのような検体の例には、血液、血液の希釈液、血漿、装置校正用のモデリング液（複数種類の緩衝液の混合液）などが含まれる。
- [0059] 具体的には、ピペット移動部 133 がピペットチップ 138 の先端を容器 131 の下方側の位置 a まで移動させた状態でピペット 132 が容器 131 内の検体の少なくとも一部を吸引した後、ピペットチップ 138 の先端を位置 a よりも上の位置 b まで移動させた状態でピペット 132 が吸引した検体

を容器 131 内に吐出して検体を攪拌するように、制御部 150 がピペット 132 およびピペット移動部 133 を制御する（後述する図 3A～図 3D 参照）。これらの操作を 1 回以上繰り返すことで、容器 131 内の検体を良好に攪拌することができる。それにより、検出チップ 10 の流路 41 に供給される液体の濃度分布を均一にすることができる。

[0060] 容器 131 内の検体を攪拌するとき、制御部 150 は、必要に応じてピペット 132 が検体を吸引および吐出することの繰り返し回数や、検体を吸引または吐出するときのピペットチップ 138 の先端の位置を、検体の種類や量に応じて切り替えてもよい。

[0061] 搬送部 140 は、検出チップ 10 を、設置位置、検出位置または送液位置に搬送し、固定する。ここで、「設置位置」とは、検出チップ 10 を SPF S 装置 100 に設置するための位置である。また、「検出位置」とは、光照射部 110 が検出チップ 10 に光を照射し、それに伴い発生する蛍光  $\beta$  またはプラズモン散乱光  $\alpha$  を光検出部 120 が検出する位置である。さらに、「送液位置」とは、送液部 130 が検出チップ 10 の流路 41 内に液体を供給するか、または検出チップ 10 の流路 41 内の液体を除去する位置である。

[0062] 搬送部 140 は、搬送ステージ 141 およびチップホルダー 142 を含む。チップホルダー 142 は、搬送ステージ 141 に固定されており、検出チップ 10 を着脱可能に保持する。チップホルダー 142 の形状は、検出チップ 10 を保持することができ、かつ励起光  $\alpha$  や反射光、蛍光  $\beta$ 、プラズモン散乱光  $\alpha$  などの光の光路を妨げない形状である。たとえば、チップホルダー 142 には、励起光  $\alpha$  や反射光、蛍光  $\beta$ 、プラズモン散乱光  $\alpha$  などの光が通過するための開口が設けられている。搬送ステージ 141 は、チップホルダー 142 を一方向およびその逆方向に移動させる。搬送ステージ 141 の形状も、励起光  $\alpha$  や反射光、蛍光  $\beta$ 、プラズモン散乱光  $\alpha$  などの光の光路を妨げない形状である。搬送ステージ 141 は、例えば、ステッピングモーターなどで駆動される。

[0063] 制御部 150 は、角度調整部 112、光源制御部 113、位置切替え部 1



22、センサー制御部123、ピペット移動部133、送液ポンプ駆動部134、および搬送ステージ141を制御する。制御部150は、光検出部120（受光センサー127）の検出結果を処理する処理部としても機能する。制御部150は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

[0064] [SPFS装置の検出動作]

次に、本実施の形態に係るSPFS装置100の検出動作（本発明の実施の形態に係る検出方法）について説明する。図2は、3P「3装置100の動作手順の一例を示すフローチャートである。本実施の形態では、検体が、比重の異なる複数種類の物質を含む検体である例で説明する。

[0065] まず、検出の準備をする（工程S310）。具体的には、**⊖?ド⊖装置】**00の設置位置に配置されたチップホルダー142に、検出チップ10を設置する。また、検体を収容した容器131をSPFS装置100にセットする。容器131に収容される検体の量は、容器131のデッドボリュームよりも多く、かつ容器131の最大容量よりも少ない量とする。デッドボリュームとは、ピペット132により吸引しきれずに容器131内に残る量をいう。

[0066] 次に、金属膜30（成膜面22）に対する光源から出射された励起光 $\alpha$ の入射角を増強角に設定する（工程S320）。具体的には、制御部150は、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を設置位置から検出位置に移動させる。この後、制御部150は、光源制御部113および角度調整部112を制御して、光源ユニット111から励起光 $\alpha$ を金属膜30（成膜面22）の所定の位置に照射しながら、金属膜30（成膜面22）に対する励起光 $\alpha$ の入射角を走査する。このとき、制御部150は、位置切替え部122を制御して、光学フィルター125を受光光学系ユニット121の光路外に移動させる。これとともに、制御部150は、センサー制御部123を制御して、受光センサー127でプラズモン散乱光 $\beta$ を検出する。制御部150は、励起光 $\alpha$ の入射角とプラズモン散乱光 $\beta$ の強度との関係を含むデ

ータを得る。そして、制御部 150 は、データを解析して、プラズモン散乱光  $\alpha$  の強度が最大となる入射角（増強角）を決定する。最後に、制御部 150 は、角度調整部 112 を制御して、金属膜 30（成膜面 22）に対する励起光  $\alpha$  の入射角を増強角に設定する。なお、増強角を測定するときに検出したプラズモン散乱光  $\alpha$  の検出値は、プランク値として制御部 150 に記録しておいてもよい。

[0067] なお、増強角は、プリズム 20 の素材および形状、金属膜 30 の厚み、流路 41 内の液体の屈折率などにより決まるが、流路 41 内の液体の種類および量、プリズム 20 の形状誤差などの各種要因によりわずかに変動する。このため、測定を行うたびに増強角を決定することが好ましい。増強角は、 $0 \sim 1^\circ$  程度のオーダーで決定される。

[0068] 次に、容器 131 中の検体を攪拌する（攪拌；工程 S330）。図 3 は、本実施の形態に係る攪拌工程の一例を示す模式図である。図 3A に示されるように、制御部 150 は、ピペット移動部 133 を制御して、ピペットチップ 138 の先端を容器 131 の下方側の位置 a まで移動させる（図 3A 参照）。そして、ピペットチップ 138 の先端を位置 a に固定した状態で、制御部 150 は、送液ポンプ駆動部 134 を制御して、ピペット 132 に容器 131 内の検体の少なくとも一部を吸引させる（図 3B 参照）。

[0069] 「位置 a」は、ピペット 132 が容器 131 内の検体の少なくとも一部を吸引するときのピペットチップ 138 の先端の位置である。具体的には、位置 a は、比重の異なる複数種類の物質を含む検体を容器 131 内で一定時間放置したときに、比重が相対的に高い物質が偏在する領域内の位置を示す。比重が相対的に高い物質が偏在した領域内とは、例えば検体が血液である場合、血球が沈降した領域をいう。

[0070] 次に、制御部 150 は、ピペット移動部 133 を制御して、ピペットチップ 138 の先端を、位置 a よりも上の位置 b まで移動させる（図 3C 参照）。そして、ピペットチップ 138 の先端を位置 b に固定した状態で、制御部 150 は、送液ポンプ駆動部 134 を制御して、ピペット 132 に、吸引

した検体を容器 131 内に吐出させる (図 3 D 参照)。

[0071] 位置 b」は、ピペット 132 が吸引した検体を容器 131 内に吐出するときのピペットチップ 138 の先端の位置である。具体的には、位置 b は、比重の異なる複数種類の物質を含む検体を容器 131 内で一定時間放置したときに、容器 131 内の比重が相対的に高い物質が偏在した領域よりも上の位置を示す。位置 b は、容器 131 内の検体の液面よりも上であることが好ましく、検体の液面から 0 mm を超えて 15 mm 以下離れていることが好ましい。位置 b が、容器 131 内の検体の液面から 15 mm 以下の高さにあると、容器 131 の周囲に検体が飛び散って、装置を汚染するのを抑制できる。このように、ピペット 132 が、吸引した検体を容器 131 内の検体の液面よりも上から吐出することで、気液界面の衝突により高い攪拌効果を得ることができる。

[0072] 位置 a および位置 b は、検体の種類や量、容器 131 の形状などによって異なるが、例えば位置 a を、容器 131 の底面からの高さが、容器 131 の高さの  $1/3$  以下となるように設定し、位置 b を、容器 131 の底面からの高さが、容器 131 の高さの  $1/3$  超となるように設定してもよい。

[0073] ピペット移動部 133 は、ピペット 132 を鉛直方向に移動させることが好ましい。また、ピペット 132 が吸引した検体を吐出するとき、ピペットチップ 138 の先端は、検体が容器 131 内の検体の液面の中央部に吐出されるように位置決めされることが好ましい。容器 131 内の検体の液面の中央部とは、容器 131 内の検体の液面において、液面の中心を円中心とする半径  $r$  の領域をいう。半径  $r$  は、液面の中心と容器 131 の内壁面との間の長さのうち、最短の長さの  $1/2$ 、好ましくは  $1/3$  としうる。

[0074] ピペット 132 が吸引または吐出する検体の量は、容器 131 に収容された検体の量の 20 体積%以上であることが好ましく、50 体積%以上であることがより好ましい。吸引または吐出する検体の量を一定以上とすることで、容器 131 内を流動する検体の割合が増えるので、高い攪拌効果が得られやすい。

- [0075] ピペット132が吸引した検体を吐出するときの吐出速度は、1000～15000  $\mu\text{l}/\text{min}$ であることが好ましい。吐出速度を一定以上とすることで、容器131内を流動する検体の流速が高まるので、高い攪拌効果が得られやすい。
- [0076] 図3A～3Dまでの操作を1回以上、好ましくは複数回繰り返すことで、容器131内の検体を良好に攪拌することができる。
- [0077] 次いで、検体中の被検出物質と金属膜30上の捕捉体とを反応させる（1次反応；工程S340）。具体的には、制御部150は、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を検出位置から送液位置に移動させる。この後、制御部150は、送液ポンプ駆動部134を制御して、容器131中の検体を流路41内に供給する。これにより、検体中に被検出物質が存在する場合は、被検出物質の少なくとも一部は金属膜30上の捕捉体により捕捉される。この後、流路41内を緩衝液などで洗浄して、捕捉体に捕捉されなかった物質を除去する。
- [0078] 次いで、プリズム20を介して励起光 $\alpha$ を金属膜30（成膜面22）に照射して、蛍光 $\beta$ と同じ波長の光の光量（光学プランク値）を測定する（工程S350）。「光学プランク値」とは、蛍光値の測定（工程S370）において蛍光 $\beta$ とともに測定される背景光の光量を意味する。具体的には、制御部150は、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を送液位置から検出位置に移動させる。制御部150は、位置切替え部122を制御して、光学フィルター125を受光光学系ユニット121の光路上に移動させる。次いで、制御部150は、光源制御部113を制御して、金属膜30（成膜面22）に向けて光源ユニット111から励起光 $\alpha$ を出射させる。これと同時に、制御部150は、センサー制御部123を制御して、受光センサー127で蛍光 $\beta$ と同じ波長の光の光量を検出する。これにより、受光センサー127は、正確にノイズとなる光の光量（光学プランク値）を測定することができる。測定値は、制御部150に送信され、光学プランク値として記録される。

[0079] 次いで、金属膜30上の捕捉体に捕捉された被検出物質を蛍光物質で標識する(2次反応;工程S360)。具体的には、制御部150は、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を検出位置から送液位置に移動させる。この後、制御部150は、送液ポンプ駆動部134を制御して、容器131中の蛍光標識液を流路41内に供給する。これにより、被検出物質を蛍光物質で標識することができる。蛍光標識液は、例えば、蛍光物質で標識された抗体(2次抗体)を含む緩衝液である。この後、流路41内を緩衝液などで洗浄し、遊離の蛍光物質などを除去する。

[0080] 次いで、流路41の底面(金属膜30)上に直接的または間接的に、蛍光物質で標識された被検出物質が存在する状態で、プリズム20を通して励起光 $\alpha$ を金属膜30(成膜面22)に照射して、反応場の被検出物質を標識する蛍光物質からの蛍光値を測定する(工程S370)。具体的には、制御部150は、搬送ステージ141を制御して、検出チップ10を送液位置から検出位置に移動させる。この後、制御部150は、光源制御部113を制御して、金属膜30(成膜面22)に向けて光源ユニット111から励起光 $\alpha$ を出射させる。これと同時に、制御部150は、センサー制御部123を制御して、受光センサー127で蛍光 $\beta$ と同じ波長の光の光量を検出する。これにより、受光センサー127は、正確に蛍光量を測定することができる。測定値は、制御部150に送信され、蛍光値として記録される。

[0081] 最後に、被検出物質の存在または量を示すシグナル値を算出する(工程S380)。蛍光値は、主として、被検出物質を標識する蛍光物質に由来する蛍光成分(シグナル値)と、光学プランク値とを含む。したがって、制御部150は、工程S370で得られた蛍光値から工程S350で得られた光学プランク値を引くことで、被検出物質の量に相関するシグナル値を算出することができる。シグナル値は、あらかじめ作成しておいた検量線により、被検出物質の量や濃度などに換算される。

[0082] (効果)

以上のように、本実施の形態に係る検出方法およびSPFS装置100で

は、容器 131 内で検体を十分に攪拌した後、1次反応に必要な量の検体を検出チップ 10 の流路 41 内に供給する。それにより、検出チップ 10 の流路 41 内に供給される検体の濃度分布が、本来の検体の濃度分布と大きく異なるないので、検体に含まれる被検出物質の量を正確に検出することができる。

[0083] 本実施の形態で得られる効果を、検体が血液である例で具体的に説明する。まず、容器 131 内で検体を攪拌する工程（例えば工程 S330）を行わない場合について説明する。図 4A は、容器 131 内で血液を放置した時間と、放置後に容器 131 の下方側から採取した血液のヘマトクリット値との関係の一例を示すグラフである。図 4B は、容器 131 内で血液を放置した時間と、放置後に容器の下方側から採取した血液中のシグナル値との関係の一例を示すグラフである。図 4B におけるシグナル値 (%) は、血液を放置した時間を *Omin* としたときのシグナル値（血球沈降がない状態でのシグナル値）を 100% としたときの相対値を示す。血液を放置した時間が長いほど、採取された血液中のヘマトクリット値は増加し（図 4A 参照）、シグナル値は減少することが示される（図 4B 参照）。ヘマトクリット値が増加したのは、時間の経過に伴い、血球の自然沈降が進んだためであると考えられる。シグナル値が減少したのは、採取された血液中のヘマトクリット値が増加した分、被検出物質を含む液体成分の割合が減少したためであると考えられる。これらの傾向は、ヘマトクリット値が低い検体において顕著であることが示される。

[0084] 次に、容器 131 内で検体を攪拌する工程（例えば工程 S330）を行う場合について説明する。図 5 は、容器 131 内での血液を放置した時間と、容器 131 の下方側から採取した血液中のヘマトクリット値との関係の一例を示すグラフである。図 5 に示されるように、攪拌を行わない場合やピペットチップの先端を容器の下方側の位置に固定したまま血液の吸引・吐出を行った場合、血液を放置した時間が長いと、採取された血液中のヘマトクリット値が増加することが示される。これに対し、容器 131 内で検体を攪拌す

る工程（工程 S 3 3 0）を行った場合、血液を放置した時間が長くて、採取された血液中のヘマトクリット値はほぼ変わらないことが示される。これらの結果から、容器 1 3 1 内で検体を攪拌する工程を行うことで、検出チップ 1 0 に供給される血液中の液体成分の割合が、本来の液体成分の割合と大きく異なるないので、血液中の被検出物質の量を正確に検出できる。

[0085] 特に、容器 1 3 1 内の検体を攪拌する工程（工程 S 3 3 0）において、ピペットチップ 1 3 8 の先端を、容器 1 3 1 内の検体の液面よりも上に配置した状態で、吸引した検体の吐出を行うことで、気液界面が衝突し合うため、高い攪拌効果が得られやすい。また、ピペットチップ 1 3 8 の容量が容器 1 3 1 内の検体の量よりも多い場合、ピペットチップ 1 3 8 内に空気も吸い込まれやすい。これに対して、ピペットチップ 1 3 8 の先端を、容器 1 3 1 内の検体の液面よりも上の位置に配置した状態で、吸引した検体の吐出を行うことで、容器 1 3 1 内の検体に気泡が混入するのを抑制できる。したがって、容器 1 3 1 内の検体の量とピペットチップ 1 3 8 の容量が大きく異なる場合であっても、容器 1 3 1 内の検体に気泡を混入させることなく、十分に攪拌することができる。容器 1 3 1 内の検体の量とピペットチップ 1 3 8 の容量とが大きく異なる場合とは、例えばピペットチップの容量／容器 1 3 1 内の検体の量、または容器 1 3 1 内の検体の量／ピペットチップの容量が、 $2/1 \sim 5/1$  の範囲となる場合をいう。

[0086] なお、上記実施の形態では、容器 1 3 1 と検出チップ 1 0 とを別体とした検出装置および検出方法について説明した。しかし、本発明に係る検出装置および検出方法は、この態様に限定されず、容器 1 3 1 と検出チップ 1 0 とが一体化したチップを用いてもよい。

[0087] また、上記実施の形態では、ピペット移動部 1 3 3 が、ピペット 1 3 2 を搬送ステージ 1 4 1 に対して移動させる検出装置および検出方法について説明した。しかし、本発明に係る検出装置および検出方法は、この態様に限定されず、ピペット 1 3 2 に対して搬送ステージ 1 4 1 を移動させてもよい。例えば、工程 S 3 3 0 において、ピペット 1 3 2 を固定した状態で、搬送ス

ページ 141 を上下方向に移動させて容器 131 内の検体を攪拌してもよい。

[0088] また、上記実施の形態では、金属膜 30 が形成されたプリズム 20 を使用し、光子と表面プラズモンとを結合（カップリング）させるプリズムカップリング（PC）-SPFS を用いる検出装置および検出方法について説明したが、本発明に係る検出装置および検出方法は、この態様に限定されない。図 6 は、回折格子を含む金属膜 30' の斜視図である。本発明に係る検出装置および検出方法では、図 6 に示されるように、回折格子を含む金属膜 30' を有する検出チップを使用してもよい。この場合も、光子と表面プラズモンとを結合させ、金属膜 30' からプラズモン散乱光  $\beta$  を放出させることができる。この場合、プリズム 20 は不要である。また、光照射部 110 は、検出チップの金属膜 30' 側に配置され、蛍光  $\beta$  の検出工程およびプラズモン散乱光  $\beta$  の検出工程では、回折格子に向けて励起光  $\alpha$  を照射する。

[0089] また、上記実施の形態では、SPFS 装置の検出動作において、入射角を増強角に設定する工程（工程 S320）、攪拌を行う工程（工程 S330）、1次反応を行う工程（工程 S340）および光学プランク値を測定する工程（工程 S350）をこの順番に行う態様について説明した。しかし、本発明に係る検出方法および検出装置では、これらの順番に限定されず、たとえば 1次反応を行った後に入射角を増強角に設定してもよいし、光学プランク値を測定した後に 1次反応を行ってもよい。

[0090] また、上記実施の形態では、検体に含まれる被検出物質の検出工程を、SPFS 法により行う態様について説明した。しかし、本発明に係る検出方法および検出装置では、これに限定されず、たとえば ELISA 法（Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay）、反射干渉分光法（Reflectometric Interference Spectroscopy（RIFS 法）、表面プラズモン共鳴法（SPR 法）および水晶振動子マイクロバランス解析（QCM 法）などにより検出工程を行ってもよい。

## 実施例



[0091] 以下、実施例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0092] < 実施例 1 >

(1) ヘマトクリット値の測定

ヘマトクリット値40%の全血サンプルを、容器に500 $\mu$ L注入し、30分間放置し、血球を沈降させた。血球が沈降したサンプルを収容した容器を、本実施の形態に係るSPFS装置にセットした。そして、ピペットチップの先端を、容器の底面から容器の高さの1/7の高さにある位置(血球が沈降した領域内)まで移動させた状態で容器内のサンプルを200 $\mu$ L吸引した後、ピペットチップの先端をサンプルの液面よりも2mm上まで移動させた状態で、吸引したサンプル200 $\mu$ Lを容器内に吐出した。サンプルの吐出速度は、10000 $\mu$ L/minとした。この攪拌操作を5回行った。攪拌後、容器の底面から容器の高さの1/7の高さにある位置から容器内のサンプルを100 $\mu$ L採取し、マイクロヘマトクリット法にてヘマトクリット値を測定した。その結果、ヘマトクリット値は42%であり、本来のヘマトクリット値(40%)からの大きなズレはみられなかった。

[0093] (2) 被検出物質の検出

(検出チップの準備)

金属膜上の反応場に捕捉体として抗トロポニンI抗体(抗cTnI抗体)が固定されている検出チップを準備した。準備した検出チップを、上記SPFS装置のチップホルダーに設置した。

(全血サンプルの攪拌・検出)

1) 抗原としてトロポニンI(cTnI)を含むヘマトクリット値40%の全血サンプルを容器に500 $\mu$ L注入した。サンプルを収容した容器を上記SPFS装置にセットし、前記(1)と同じ条件で攪拌した。その後、容器の底面から容器の高さの1/7の高さにある位置(血球が沈降した領域内)からサンプルを100 $\mu$ L採取し、検出チップの流路に供給し、サンドイッチ免疫アッセイ法にてアッセイを行った。それにより、シグナル値S1

を得た。

2) 前記 1) と同じ全血サンプルを容器に 500  $\mu$ L 注入した。その直後に、容器の底面から容器の高さの 1/7 の高さにある位置からサンプルを 100  $\mu$ L 採取し、検出チップの流路に供給して前記 1) と同様のアッセイを行い、シグナル値 S2 を得た。シグナル値 S2 は、血球が沈降していない状態でのシグナル値に対応する。

3) 前記 1) と 2) で得られたシグナル値を下記式に当てはめて、シグナル値の低下率を算出した。

$$\text{シグナル値の低下率 (\%)} = \{ (\text{シグナル値 S2} - \text{シグナル値 S1}) / \text{シグナル値 S2} \} \times 100$$

その結果、シグナル値の低下率は 2% であり、血球の沈降がない場合と比べて、ほとんど変わらないことがわかった。

[0094] < 比較例 1 >

(1) ヘマトクリット値の測定

容器内のサンプルの攪拌を行わなかった以外は実施例 1 と同様にしてヘマトクリット値を測定した。その結果、ヘマトクリット値は 62% であり、本来のヘマトクリット値 (40%) とは大きく異なることがわかった。

[0095] (2) 被検出物質の検出

容器内のサンプルの攪拌を行わなかった以外は実施例 1 と同様にしてアッセイを行った。その結果、シグナル値の低下率は 30% 程度であり、血球の沈降がない状態と比べてシグナル値の低下率が大きいことがわかった。

[0096] < 比較例 2 >

(1) ヘマトクリット値の測定

ピペットチップの先端を容器の底面から容器の高さの 1/7 の高さにある位置 (血球が沈降した領域内) に固定した状態で、容器内のサンプルを 200  $\mu$ L 吸引した後、吸引したサンプルを容器内に吐出する攪拌操作を 5 回行った以外は実施例 1 と同様にしてヘマトクリット値を測定した。その結果、ヘマトクリット値は 60% であり、本来のヘマトクリット値 (40%) とは

大きく異なることがわかった。

[0097] (2) 被検出物質の検出

1) の工程において、ピペットチップの先端を容器の底面から容器の高さの  $1/7$  の高さにある位置 (血球が沈降した領域内) に固定した状態で、容器内のサンプルを  $200 \mu\text{L}$  吸引した後、吸引したサンプルを容器内に吐出する攪拌操作を5回行った以外は実施例1と同様にしてアッセイを行った。その結果、シグナル値の低下率は28%程度であり、血球の沈降がない状態と比べてシグナル値の低下が大きいことがわかった。

[0098] 本出願は、2015年7月7日出願の特願2015—136022に基づく優先権を主張する。当該出願明細書および図面に記載された内容は、すべて本願明細書に援用される。

符号の説明

- [0099]
- 10 検出チップ
  - 20 プリズム
  - 21 入射面
  - 22 成膜面
  - 23 出射面
  - 30 金属膜
  - 40 流路蓋
  - 41 流路
  - 100 SPFS装置
  - 110 光照射部
  - 111 光源ユニット
  - 112 角度調整部
  - 113 光源制御部
  - 120 光検出部
  - 121 受光光学系ユニット
  - 122 位置切り替え部

- 1 2 3 センサー制御部
- 1 2 4 第 1 レンズ
- 1 2 5 光学フィルター
- 1 2 6 第 2 レンズ
- 1 2 7 受光センサー
- 1 3 0 送液部
- 1 3 1 容器
- 1 3 2 ピペット
- 1 3 3 ピペット移動部
- 1 3 4 送液ポンプ駆動部
- 1 3 5 シリンジ
- 1 3 6 プランジャー
- 1 3 7 ピペットノズル
- 1 3 8 ピペットチップ
- 1 4 0 搬送部
- 1 4 1 搬送ステージ
- 1 4 2 チップホルダー
- 1 5 0 制御部
- $\alpha$  励起光
- $\beta$  蛍光
- $\gamma$  プラズモン散乱光

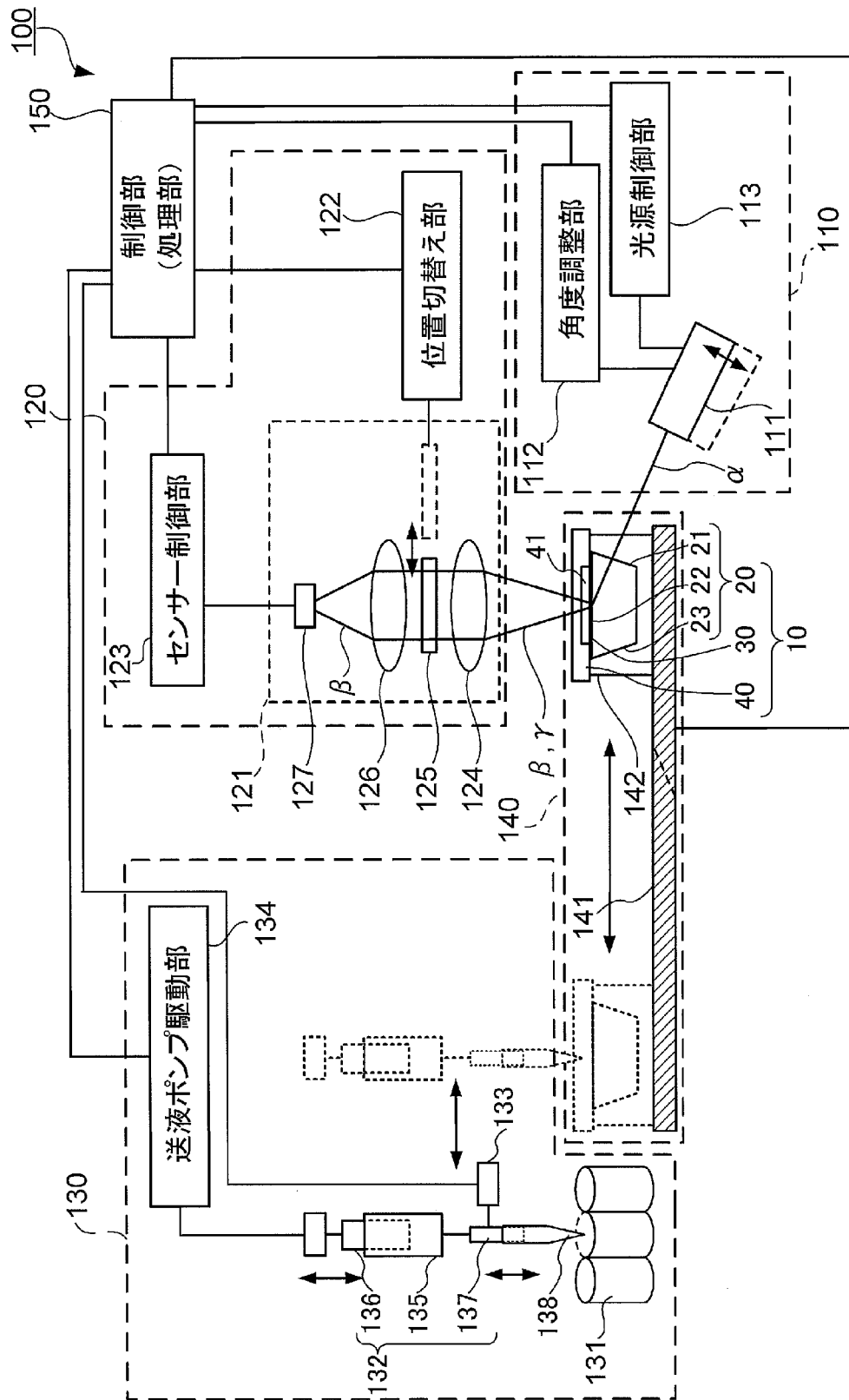
## 請求の範囲

- [請求項 1] 検体に含まれる被検出物質を検出する検出装置であって、  
ピペットチップが着脱可能であり、容器内の検体を吸引または吐出するピペットと、  
前記ピペットを移動させるピペット移動部と、  
前記ピペットおよび前記ピペット移動部を制御する制御部と、  
を有し、  
前記ピペット移動部が前記ピペットチップの先端を前記容器の下方側の位置 a まで移動させた状態で前記ピペットが前記容器内の少なくとも一部の検体を吸引した後、前記ピペット移動部が前記ピペットチップの先端を前記位置 a よりも上の位置 b まで移動させた状態で前記ピペットが吸引した検体を前記容器内に吐出して前記検体を攪拌するように、前記制御部が前記ピペットおよび前記ピペット移動部を制御する、検出装置。
- [請求項 2] 前記ピペット移動部は、前記ピペットを鉛直方向に移動させる、請求項 1 に記載の検出装置。
- [請求項 3] 前記ピペットが吸引した検体を吐出するとき、前記ピペットチップの先端は、前記容器内の検体の液面よりも上にある、請求項 1 または 2 に記載の検出装置。
- [請求項 4] 前記ピペットが吸引した検体を吐出するとき、前記ピペットチップの先端は、前記容器内の検体の液面から 0 mm 超 15 mm 以下離れている、請求項 3 に記載の検出装置。
- [請求項 5] 前記ピペットが吸引した検体を吐出するとき、前記ピペットチップの先端は、前記容器内の検体の液面の中央部に吐出されるように位置決めされる、請求項 3 または 4 に記載の検出装置。
- [請求項 6] 前記ピペットが吸引した検体を吐出するときの吐出速度は、1000～15000  $\mu\text{l}/\text{min}$  である、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の検出装置。

- [請求項7] 前記ピペットが吸引または吐出する検体の量は、前記容器に收容された検体の量の20体積%以上である、請求項1～6のいずれか一項に記載の検出装置。
- [請求項8] 前記制御部は、前記ピペットが検体を吸引および吐出することの繰り返し回数、および前記ピペットが前記検体を吸引または吐出するときの前記ピペットチップの先端の位置の少なくとも一つを、検体の種類または量に応じて切り替える、請求項1～7のいずれか一項に記載の検出装置。
- [請求項9] 前記検体は、比重の異なる複数種類の物質を含む、請求項1～8のいずれか一項に記載の検出装置。
- [請求項10] 前記検体は、血液または血液の希釈液である、請求項9に記載の検出装置。
- [請求項11] 前記ピペットが前記容器内の検体を吸引するとき、前記ピペットチップの先端は、前記容器内の検体のうち比重が相対的に高い物質が偏在した領域内にある、請求項9または10に記載の検出装置。
- [請求項12] ピペットに装着されたピペットチップの先端を検体が收容された容器の下方側の位置aまで移動させた状態で前記ピペットが前記容器内の検体の少なくとも一部を吸引した後、前記ピペットチップの先端を前記位置aよりも上の位置bまで移動させた状態で前記ピペットが吸引した検体を吐出して前記容器内の検体を攪拌する工程と、  
攪拌された検体に含まれる被検出物質を検出する工程と、を含む、検出方法。
- [請求項13] 前記攪拌する工程において前記ピペットが吸引した検体を吐出するとき、前記ピペットチップの先端は、前記容器内の検体の液面よりも上にある、請求項12に記載の検出方法。
- [請求項14] 前記攪拌する工程において前記ピペットが吸引した検体を吐出するときの吐出速度は、 $1000 \sim 15000 \mu\text{l}/\text{min}$ である、請求項12または13に記載の検出方法。

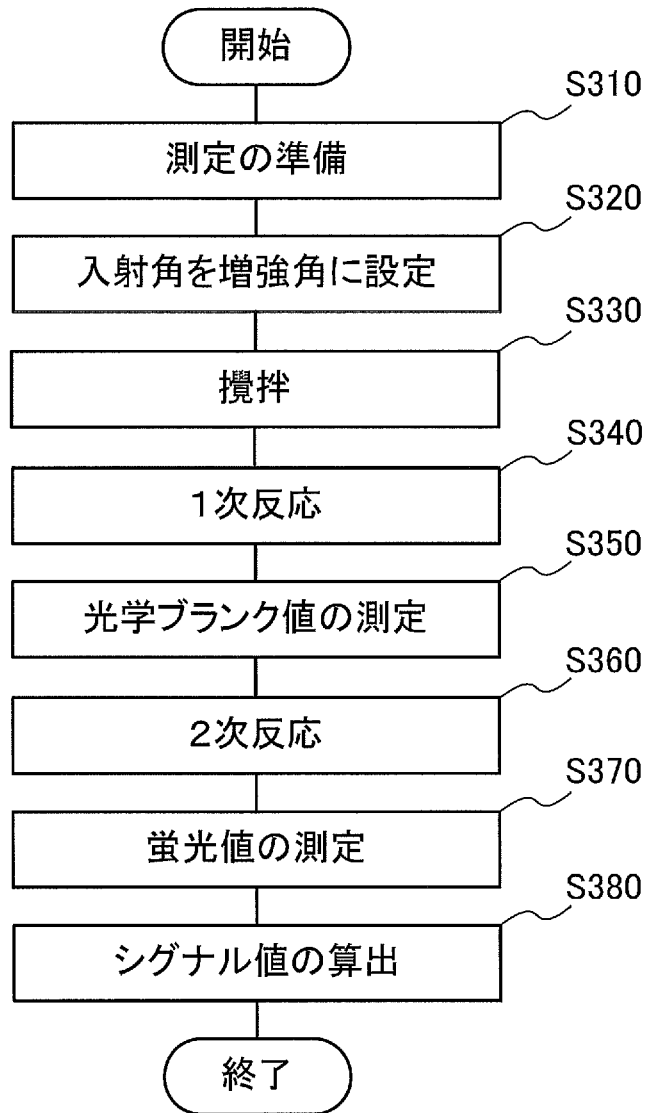
- [請求項 15] 前記検体は、比重の異なる複数種類の物質を含む、請求項 12 ～ 14 のいずれか一項に記載の検出方法。
- [請求項 16] 前記検体は、血液または血液の希釈液である、請求項 15 に記載の検出方法。
- [請求項 17] 前記攪拌する工程において前記ピペットが前記容器内の検体を吸引するとき、前記ピペットチップの先端は、前記容器内の検体のうち比重が相対的に高い物質が偏在した領域内にある、請求項 15 または 16 に記載の検出方法。
- [請求項 18] 前記検出する工程は、表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光法 (SPFS) により検出を行う、請求項 12 ～ 17 のいずれか一項に記載の検出方法。

[図1]





[図2]



[图3]

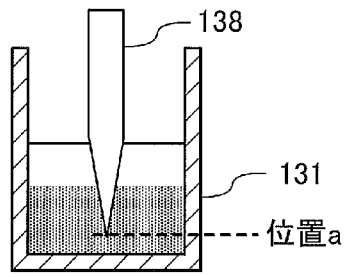


图3A

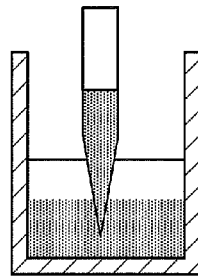


图3B

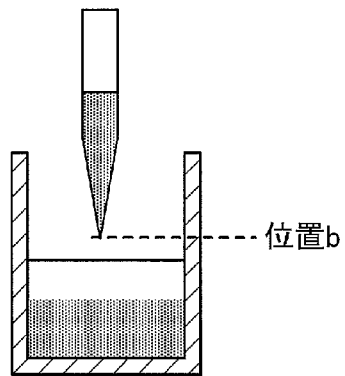


图3C

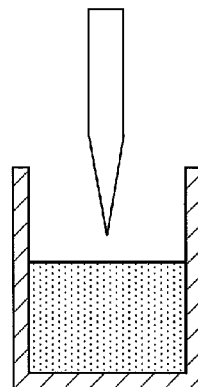


图3D

[図4]

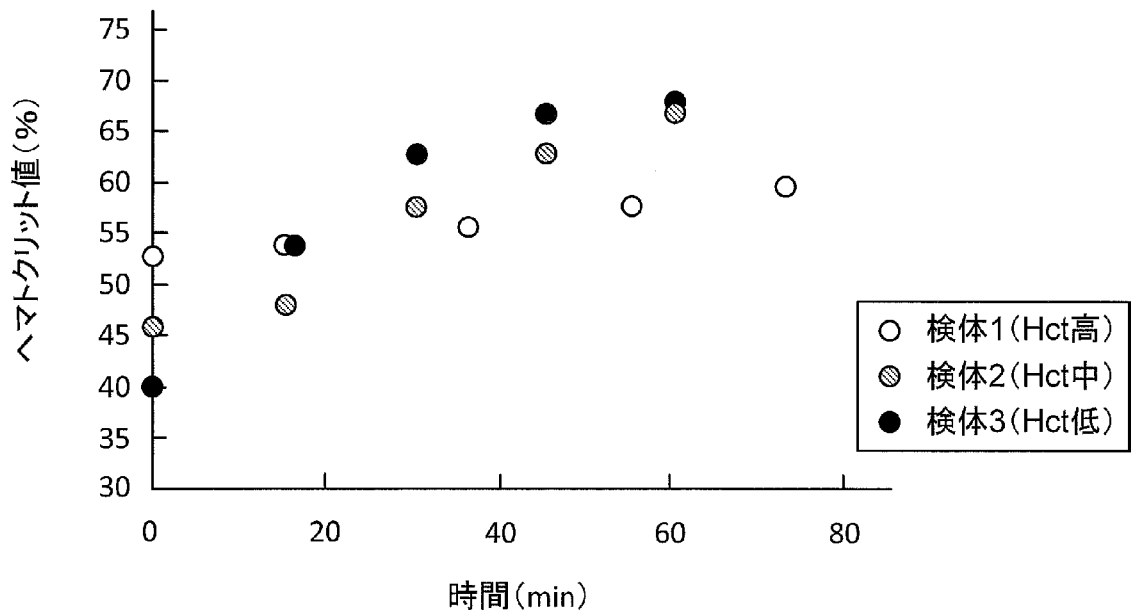


図4A

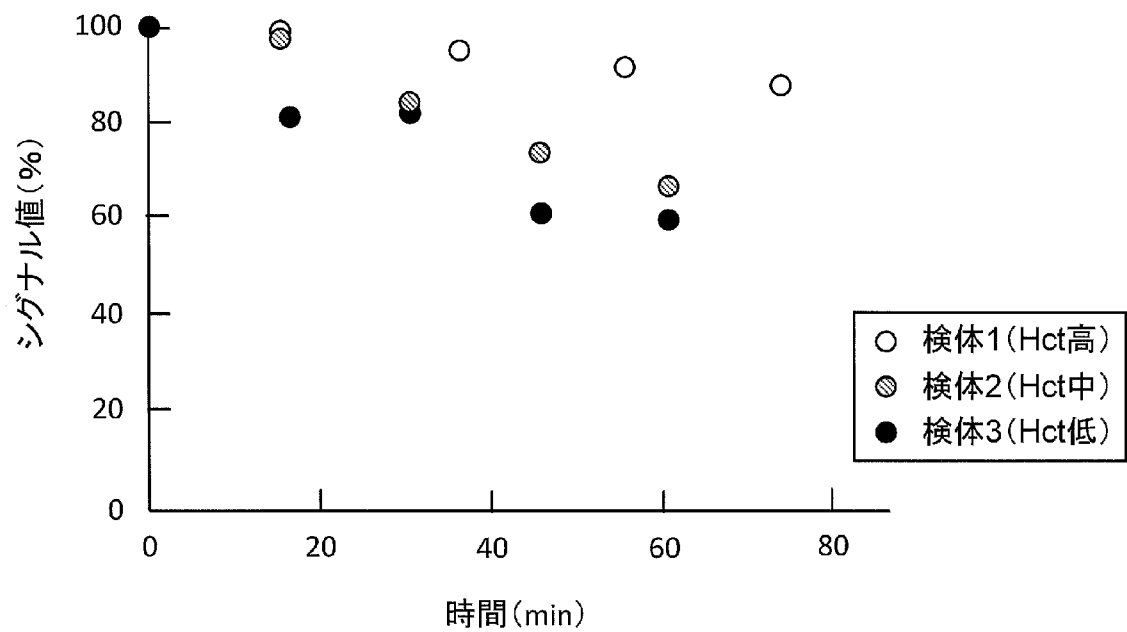
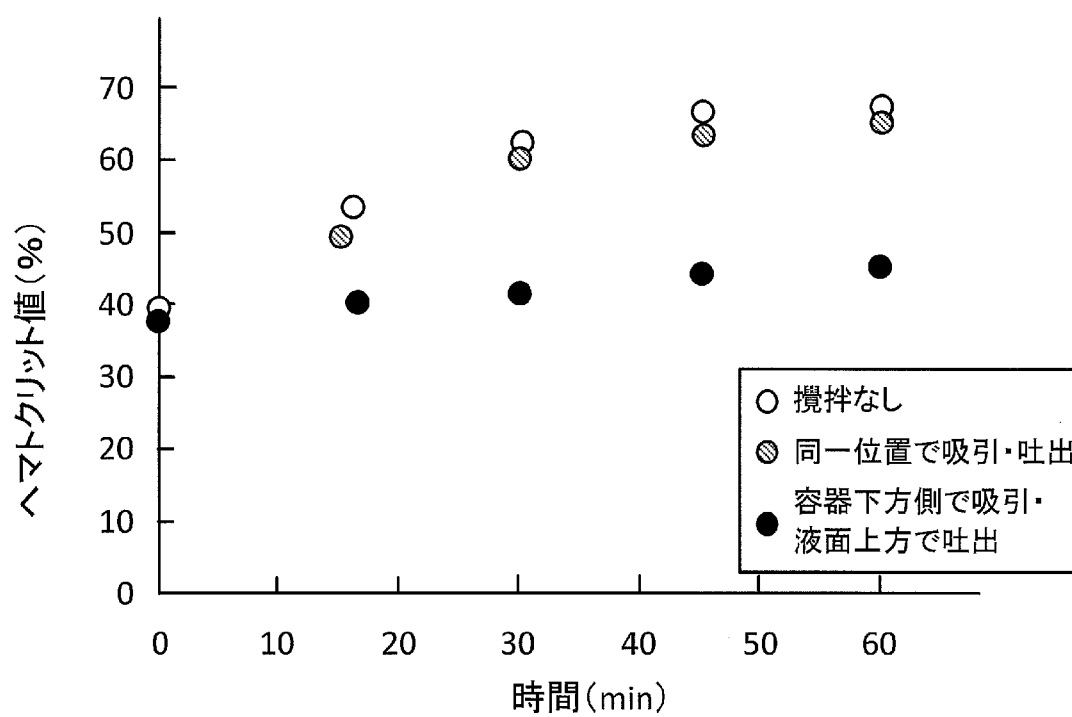
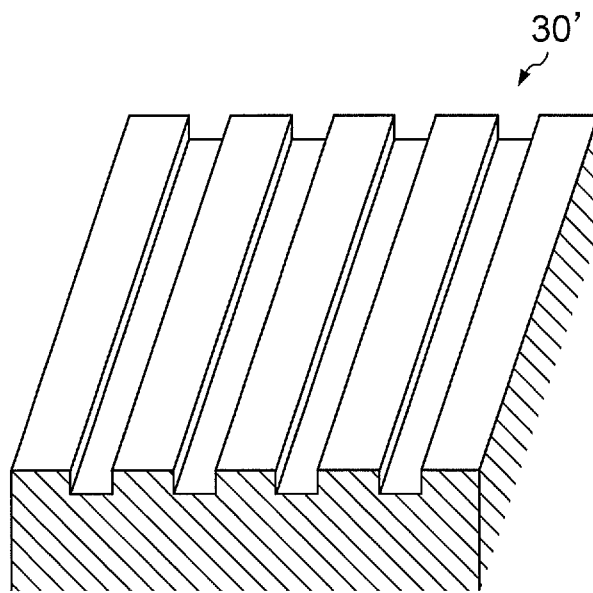


図4B

[図5]



[図6]



## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G 0 1 N 3 5 / 0 2 ( 2 0 0 6 . 0 1 ) i , G 0 1 N 1 / 3 8 ( 2 0 0 6 . 0 1 ) i , G 0 1 N 2 1 / 6 4 ( 2 0 0 6 . 0 1 ) i , G 0 1 N 3 3 / 5 4 3 ( 2 0 0 6 . 0 1 ) i , G 0 1 N 3 5 / 1 0 ( 2 0 0 6 . 0 1 ) 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)

G 0 1 N 3 5 / 0 2 , G 0 1 N 1 / 3 8 , G 0 1 N 2 1 / 6 4 , G 0 1 N 3 3 / 5 4 3 , G 0 1 N 3 5 / 1 0

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo	Shinan	Koho	1922-1996	Jitsuyo	Shinan	Toroku	Koho	1996-2016	
Kokai	Jitsuyo	Shinan	Koho	1971-2016	Toroku	Jitsuyo	Shinan	Koho	1994-2016

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

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	J P 6 2 - 1 8 4 3 5 7 A ( S e i k o I n s t r u m e n t s I n c . ) , 1 2 A u g u s t 1 9 8 7 ( 1 2 . 0 8 . 1 9 8 7 ) , page 2 , u p p e r l e f t c o l u m n , l i n e 1 t o p a g e 3 , l o w e r l e f t c o l u m n , l i n e 1 ; f i g . 1 t o 2 , 4 ( F a m i l y : n o n e )	1-18
Y	J P 2 0 1 1 - 1 0 7 0 8 9 A ( H i t a c h i H i g h - T e c h n o l o g i e s C o r p . ) , 0 2 J u n e 2 0 1 1 ( 0 2 . 0 6 . 2 0 1 1 ) , p a r a g r a p h s [ 0 0 1 2 ] , [ 0 0 2 4 ] , [ 0 0 2 8 ] , [ 0 0 3 9 ] , [ 0 0 4 3 ] t o [ 0 0 4 7 ] ; f i g - 2 t o 3 ( F a m i l y : n o n e )	1-18

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
1 5 S e p t e m b e r 2 0 1 6 ( 1 5 . 0 9 . 1 6 )

Date of mailing of the international search report  
2 7 S e p t e m b e r 2 0 1 6 ( 2 7 . 0 9 . 1 6 )

Name and mailing address of the ISA/

J a p a n P a t e n t O f f i c e  
3 - 4 - 3 , K a s u m i g a s e k i , C h i y o d a - k u ,  
T o k y o 1 0 0 - 8 9 1 5 , J a p a n

Authorized officer

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 016 / 070047

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 10-307141 A (Boehringer Mannheim GmbH), 17 November 1998 (17.11.1998), abstract ; fig . 1 & US 6194223 B1 abstract ; fig . 1 & EP 872733 A1	18
A	JP 62-184356 A (Seiko Instruments Inc.), 12 August 1987 (12.08.1987), entire text ; all drawings (Family : none )	1-18

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. G01N35/02 (2006. 01) i, G01N1/38 (2006. 01) i, G01N2 1/64 (2006. 01) i, G01N33/543 (2006. 01) i, G01N35/10 (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. G01N35/02, G01N1/38, G01N2 1/64, G01N33/543, G01N35/10

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	1922-19
日本国公開実用新案公報	1971-20
日本国実用新案登録公報	1996-20
日本国登録実用新案公報	1994-20

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)  
年

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 62-184357 A (セイコー電子工業株式会社) 1987. 08. 12, 第2ページ左上欄第1行-第3ページ左下欄第1行及び第1-2、4図 (ファミリーなし)	1-18
Y	JP 2011-107089 A (株式会社日立ハイテクノロジーズ) 2011. 06. 02, 段落 [0012]、[0024]、[0028]、[0039]、[0043] - [0047] 及び図2-3 (ファミリーなし)	1-18

c 欄の続きにも文献が列挙されている。 「: パテントファミリーに関する別紙を参照。」

* 引用文献のカテゴリー	の日の後に公表された文献
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの	「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)	「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献	「&」同一パテントファミリー文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願	

国際調査を完了した日 15. 09. 2016	国際調査報告の発送日 27. 09. 2016
----------------------------	----------------------------

国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA / JP) 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) 渡邊 吉喜 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2J	3406
---	--	----	------



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
Y	JP 10-307141 A (ベーリンガー マンハイム グーエムベーカー) 1998. 11. 17, 要約及び図 1 & US 6194223 B1, 要約及び図 1 & EP 872733 A1	18
A	JP 62-184356 A (セイコー電子工業株式会社) 1987. 08. 12, 全文全 図 (ファミリーなし)	1-18