

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2006年8月31日 (31.08.2006)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2006/090753 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 33/53 (2006.01) G01N 21/03 (2006.01)
G01N 21/64 (2006.01) G01N 37/00 (2006.01)

(74) 代理人: 塩谷 隆嗣 (SHIOTANI, Takashi); 〒5500013
大阪府大阪市西区新町 1-10-7-401 Osaka
(JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2006/303199

(22) 国際出願日: 2006年2月22日 (22.02.2006)

(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2005-049770 2005年2月24日 (24.02.2005) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 京セラ株式会社 (KYOCERA CORPORATION) [JP/JP]; 〒6128501 京都府京都市伏見区竹田鳥羽殿町6番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山口 雄一郎 (YAMAGUCHI, Yuichiro) [JP/JP]; 〒8994396 鹿児島県霧島市国分山下町1番1号 京セラ株式会社鹿児島国分工場内 Kagoshima (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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

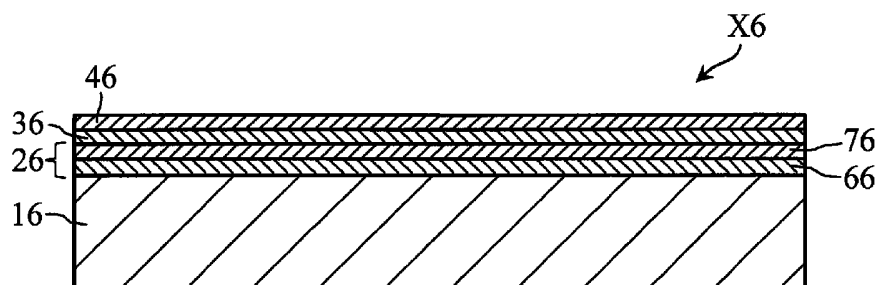
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

[続葉有]

(54) Title: DETECTION SUBSTRATE

(54) 発明の名称: 検出用基板



(57) Abstract: Detection substrate (X6) for use in, for example, the determining of the sequence of bioconstituent, such as DNA or RNA. There is provided detection substrate (X6) comprising base material (16), light reflection film (26) superimposed on a surface of the base material (16), light transmission element (36) superimposed on the surface of the light reflection film (26) and analyte immobilization film (46) superimposed on the surface of the light transmission element (36). The light reflection film (26) is, for example, one including metal film (66), preferably one further including dielectric multilayer film (76). The light transmission element (36) may be in the form of pillars by the use of glass, etc.

(57) 要約: 本発明は、DNAやRNAなどの生物構成物質の配列を測定する場合などに使用される検出用基板X6に関するものである。この検出用基板X6は、基体16と、基体16の表面に形成された光反射膜26と、光反射膜26の表面に形成された透光性要素36と、透光性要素36の表面に形成され検体固定化膜46と、を備えている。光反射膜26は、たとえば金属膜66を含んだものとされ、好ましくは誘電体多層膜76をさらに含んだものとされる。透光性要素36は、ガラスなどにより柱状体にしてもよい。



WO 2006/090753 A1



2文字コード及び他の略語については、定期発行される各*PCT*ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

明 細 書

検出用基板

技術分野

- [0001] 本発明は、DNAやRNAなどの生物構成物質の配列を測定する場合などに使用される検出用基板に関する。

背景技術

- [0002] DNAマイクロアレーをはじめとする検出用基板は、ガラス基体上にアミノシラン、アミノアルキルシランまたはポリ-L-リジンなどの検体固定化膜を設け、この検体固定化膜上にオリゴヌクレオチドやcDNA等の検体を被着させた構成を有している。この検出用基板を用いる場合には、予め蛍光修飾した検体DNAと反応させ、その反応レベルにより変化する蛍光レベルを検出することによって、核酸配列の分析が行なわれている。このような検出方法によれば、ガラス基体から発せられるバックグラウンドの蛍光は、分解能の低下の原因となる。特に、DNAマイクロアレーでは、スタンフォード大学方式については安価ではあるが、検出精度がアフィメトリックス社(Affimetrix)タイプに比較して劣るため、検出精度向上のための感度向上が必要とされている。
- [0003] 検出精度向上のための対策としては、検体固定化膜上に、ガラス基体から発せられる蛍光を減衰させるためのブロッキング材や消光材を被着したりすることが検討されている。
- [0004] その一例として、図12に示した検出用基板Y1のように、ガラス基体80の表面に検体固定化膜81を設けるとともに、検出精度向上のために、検体固定化膜81を消光剤によりコートすることが提案されており(たとえば特許文献1参照)、また図13に示した検出用基板Y2のように、ガラス基体90上に設けた光反射膜91の表面に、金属と結合性の良い官能基を有する検体固定化膜92を形成したのもも提案されている(たとえば特許文献2参照)。
- [0005] しかしながら、図12に示した検出用基板Y1で採用されていた検体固定化膜81に消光剤やブロッキング剤をコートする方法は、消光剤やブロッキング剤が透光性の有機物質のため、バックグラウンドの蛍光を完全に除去できないという問題点を有して

いた。また、図13に示した検出基板Y2のような光反射膜91の表面に金属と結合性の良い官能基を有する検体固定化膜92を形成する方法は、光反射膜91によりガラス基体90の蛍光を遮断できるものの、AuやPt等の高価な貴金属を用いる必要があり、検体固定化膜92として金属と結合性のよい官能基を有する特殊な材料を用いる必要があり、比較的高価となることや、またSやSe等を含む毒性物質を用いることもあるため、取り扱いに注意を要するという問題点を有していた。

[0006] 一方、誘電体多層膜を用いてバックグラウンドの蛍光遮断と測定蛍光の反射を試みることも考えられるが、40層から60層と非常に多くの誘電体層が必要なため、誘電体多層膜における光の吸収も大きくなって反射率が金属ほど大きくなり、コンタミによる不具合の発生も多くなる。

[0007] また、検出用基板には、複数の生体物質をアレー状に固定化した形態のものもあるが、アレーの密度は生体物質を固定化するスポットの面積に左右される。このため、生体物質固定化膜としては、若干の撥水性を示すものが選択されるが、生体物質固定化膜での水の接触角度が大きくなりすぎると、生体物質を固定化する際に用いる溶液が弾かれてしまい、検出用基板に対して十分な量の生体物質を付着させることができない。このため、生体物質固定化膜として若干の撥水性を示すものを選択する場合には、測定蛍光強度が低下するという問題点があった。

[0008] 特許文献1: 日本国特開2003-84002号公報

特許文献2: 日本国特開2002-323498号公報

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明は、基体から発せられるバックグラウンドの蛍光を遮断するとともに、蛍光の強度を適切に高めることを課題としている。

[0010] 本発明の別の課題は、一般的に用いられている安価で安全な生体物質固定化膜を反射膜上に緻密かつ強固に保持させることにある。

[0011] 本発明のさらに別の課題は、小さな面積に十分な量の生体物質溶液をスポットすることによって高密度にアレー化された検出用基板を提供することにある。

課題を解決するための手段

- [0012] 本発明の第1の側面においては、基体上に、光反射膜、透光性要素、および検体固定化膜が順次形成されている、検出用基板が提供される。
- [0013] 本発明の第2の側面においては、基体と、前記基体上に形成された撥水性膜と、前記撥水性膜の表面に立設された複数の透光性柱状体からなる透光性要素と、前記透光性柱状体の表面に形成された検体固定化膜と、を備えている、検出用基板が提供される。この場合に撥水性膜は、たとえば光反射膜を介して前記基体の表面に形成される。
- [0014] 光反射膜は、たとえば金属膜を含んだものとされる。金属膜は、たとえばTi、Cr、Ni、Au、Ag、Pt、Rh、Al、Ni-Cr合金およびFe-Cr-Ni合金のうちの少なくとも1種を主成分としており、好ましくはTi、Cr、Ni-Cr合金およびFe-Cr-Ni合金のうちの少なくとも1種を主成分とし、さらに好ましくはTiまたはCrを主成分としている。
- [0015] 金属膜は、その表面の算術平均粗さRaが $0.05\mu\text{m}$ 以下となるように形成するのが好ましい。
- [0016] 光反射膜は、金属膜の表面に形成された反射光増幅用の誘電体多層膜をさらに含んでいてもよい。
- [0017] 誘電体多層膜は、たとえば酸化タンタル膜、酸化チタン膜、フッ化カルシウム膜、フッ化マグネシウム膜、酸化ジルコニウム膜および酸化ニオブ膜のうちの少なくとも1つの誘電体膜を含んだものとされる。
- [0018] 誘電体多層膜を構成する個々の誘電体膜の厚みは、検体固定化膜に化学的に修飾される検体から発せられる蛍光の波長と誘電体膜の屈折率との積の $(2n-1)/4$ 倍(n :自然数)とするのが好ましい。誘電体多層膜は、その厚みが $1\mu\text{m}$ 以下であるのが好ましい。
- [0019] 透光性要素は、たとえば酸化珪素の含有量が70質量%以上とされる。透光性要素の厚みは、検体固定化膜に修飾される検体から発せられる蛍光の波長と透光性柱状体の屈折率との積の $1/4$ 倍より小さくするのが好ましい。
- [0020] 透光性要素は、たとえばガラス膜として形成される。透光性要素はまた、光反射膜の表面に立設させた複数の透光性柱状体から成るものとして形成することもできる。

- [0021] 透光性柱状体は、たとえば羽根状に形成される。
- [0022] 透光性柱状体は、温度25℃、湿度60%のときの1平方メートル当たりの表面吸着水量が0.5g以上となるように形成するのが好ましい。
- [0023] 複数の透光性柱状体は、たとえば隣接するもの同士が互いに接するように形成される。複数の透光性柱状体はまた、隣接するもの同士が互いに間隔をあけるように設けてもよい。この場合、互いに隣接する透光性柱状体の間に撥水性膜を設けてもよい。この撥水性膜は、その表面が透光性要素の上端面よりも低くなるように形成するのが好ましい。撥水性膜と透光性柱状体との高さの差は、30nm以上であるのが好ましい。
- [0024] 基体は、たとえば直線状に配列された複数の凹部を有するものとされる。各凹部は、たとえば開口部から離れるほど内寸法が漸次小さくなるとともに、その内面に、光反射膜、透光性要素および検体固定化膜が順次被着される。凹部はまた、その内面の縦断面形状が放物線状となるように形成するのが好ましい。
- [0025] 凹部の周辺部には、凹部の開口部の全周を囲むように検体固定化膜の上面に撥水性膜を形成してもよい。
- [0026] 本発明の検出用基板に撥水性膜を設ける場合、撥水性膜は、その表面における水の接触角が50°以上となるように形成するのが好ましい。撥水性膜は、たとえばフッ素樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリスチレン樹脂、ポリイミド樹脂、ポリアセテート樹脂、ポリウレタン樹脂、エポキシ樹脂、フェノールノボラック樹脂、および無機フッ化物（たとえばフッ化カルシウム、フッ化マグネシウムおよびフッ化バリウム）の少なくとも1種を主成分としている。
- [0027] 検体固定化膜は、アミノ基、アルデヒド基、メルカプト基、シラン基およびカルボキシル基のうちの少なくとも1種を有しているのが好ましい。

発明の効果

- [0028] 本発明の第1の側面の検出用基板では、基体上に、光反射膜、透光性要素および検体固定化膜が順次設けられている。そのため、光反射膜において基体からのバックグラウンドの蛍光を良好に遮断しつつ、検体固定化膜に結合した検体から発せられる蛍光を高効率で反射させることができるため、蛍光の利得を高くすることができる。

。また、光反射膜上に透光性要素を設けていることから、透光性要素に対して検体固定化膜を簡便に被着させることができるようになる。

[0029] 本発明の第2の側面の検出用基板では、撥水性膜上に複数の透光性柱状体を立設するとともに、透光性柱状体の表面に検体固定化膜を設けている。そのため、撥水性膜によって生体物質など検体を含む検体溶液の広がりを押さえつつ、複数の透光性柱状体によって検体固定化膜の表面積を大きく確保するとともに毛管現象によって透光性柱状体の間に検体溶液を入り込ませることができる。これにより、検体溶液が検出用基板の表面から弾かれることを適切に抑制できるようになるとともに、検体固定化膜の表面積を大きく確保できるため、検体溶液を小さいスポットに大量に付着させることが可能となる。その結果、検出用基板において、より多くの生体物質などの検体を高密度に付着させることができるため、検体から発せられる蛍光の強度を高めることができるようになる。

[0030] また、光反射膜を介して撥水性膜を基体上に形成すれば、光反射膜において基体からのバックグラウンドの蛍光を良好に遮断するとともに、検体固定化膜に結合した検体から発せられる蛍光を高効率で反射させることができるようになる。

[0031] 本発明の検出用基板において、金属膜を、Ti、Cr、Ni、Au、Ag、Pt、Rh、Al、Ni—Cr合金およびFe—Cr—Ni合金のうちの少なくとも1種を主成分とするものとすれば、これらの金属が化学的に安定で耐薬品性に優れるため、検体測定プロセスに対して適切に適用できる。また、例示した金属は、比較的高い可視光領域の反射率物質のため、生体物質などの検体からの蛍光を比較的高い効率で反射することができる。

[0032] また、金属膜を、Ti、Cr、Ni—Cr合金およびFe—Cr—Ni合金のうちの少なくとも1種を主成分とし、とくにTiまたはCrを主成分とするものとすれば、金属膜を安価に形成することができるとともに、金属膜が不動体化した酸化膜をもつものとすることができるため、金属膜が耐薬品性に優れたものとなる。そのため、金属膜が種々の薬品や環境に曝されても腐食溶解せず、検体の固定から検体中の被検出成分(検体DNAなど)の測定までの測定プロセスにおける検出用基板の劣化を有効に防止できる。その結果、測定プロセスの条件の変更にも多くの場合耐えられるため、適用範囲が広く

なる。さらに、金属膜の表面に透光性要素や撥水性膜を形成する場合には、透光性要素や撥水性膜との密着性を高くすることができるようになる。このため、製造工程中における透光性要素や撥水性膜の脱落を有効に防止できる。

- [0033] 本発明の検出用基板において、金属膜の表面の算術平均粗さRaを $0.05\mu\text{m}$ 以下とすれば、検体固定化膜に結合した生体物質から発せられる蛍光の散乱反射を効果的に阻止することができ、蛍光の利得をより高めることができるようになる。また、金属膜の表面の粗さを先の範囲に設定すれば、検体固定化膜を被着する際に、表面の凹凸によるコート液の塗布ムラが発生するのを有効に防止できるようになる。
- [0034] 本発明の検出用基板において、光反射膜を、金属膜および誘電体多層膜からなるものとすれば、金属膜が基体からのバックグラウンドの蛍光を良好に遮断し、かつ、検体固定化膜に結合した検体から発せられる蛍光を高い効率をもって反射させることができるようになる。その一方で、誘電体多層膜においては、蛍光体から発せられた蛍光が誘電体多層膜を構成する個々の誘電体膜の表面で反射して相互に干渉し、また誘電体膜の反射光と金属膜の表面で反射光が相互に干渉する。これにより、金属膜および誘電体多層膜からなる光反射膜を採用した場合には、反射光を適切に増強することができるため、蛍光の検出精度をきわめて高くすることができる。
- [0035] とくに、誘電体多層膜を構成する個々の誘電体膜の厚みを、検体固定化膜に修飾される生体物質などの検体から発せられる蛍光の波長と誘電体膜の屈折率との積の $(2n-1)/4$ 倍(n :自然数)とすれば、各誘電体膜や金属膜の表面での反射光の干渉がより適切に起こるため、蛍光の増幅を非常に良好に行なうことができるようになる。そのため、本発明の検出用基板では、検体から蛍光の強度を効率良く高めて出射できるようになる。
- [0036] また、誘電体多層膜の厚みを $1\mu\text{m}$ 以下とすれば、誘電体多層膜での蛍光の吸収を適切に回避できるために、蛍光の増幅効率の悪化を抑制することができる。
- [0037] 本発明の検出用基板において、誘電体多層膜を、酸化タンタル膜、酸化チタン膜、フッ化カルシウム膜、酸化ジルコニウム膜および酸化ニオブ膜のうちの少なくとも1つの誘電体膜を含むものとすれば、様々な蛍光波長に対応できる反射光増加用の誘電体多層膜を形成することができる。また、先に例示した誘電体膜は、きわめて精密

に膜厚みコントロールが可能であるため、金属膜やガラス膜などの透光性要素との密着性が良好となるように表面物性を容易に制御することができる。さらに、先に例示した誘電体膜は、化学的にも安定なため、生体物質などの検体の反応処理の際にもさほど大きなダメージを受けることもない。

[0038] 本発明の検出用基板において、透光性要素を、酸化珪素の含有量が70質量%以上となるように形成すれば、透明性に優れた透光性要素を安価に形成することが可能となる。また、従来のガラス上に用いられる検体固定化膜などの検体固定化物質をそのまま用いることができるため、特殊な官能基を有する検体固定化物質を用いる必要はない。そのため、透光性要素の酸化珪素の含有量を70質量%以上とすれば、材料コストを低減することができるようになる。

[0039] 本発明の検出用基板において、透光性要素の厚みを検体固定化膜に修飾される検体から発せられる蛍光の波長と透光性要素の屈折率の積の $1/4$ より小さくすれば、検体固定化膜に結合した検体に修飾された蛍光体から発する蛍光のうち、直接外部に発せられた蛍光と、透光性柱状体を通過して基体表面で反射された反射光とが干渉し増幅するのを有効に抑制することができる。そのため、検出用基板から出射される蛍光強度を、検出用基板における異なる位置において均一化することができるようになり、蛍光強度の測定値に不連続点が生じるのを有効に防止できる。これにより、蛍光強度が位置によってばらつくことなく、安定した測定を行なうことができる。

[0040] 本発明の検出用基板において、透光性要素を光反射膜の表面に成長させた複数の透光性柱状体から成るものとすれば、透光性要素の比表面積は単純な平滑面よりも大幅に大きくなる。とくに、透光性柱状体を羽根状に形成すれば、透光性柱状体においてより高い比表面積を確保することができるようになる。このため、透光性要素を複数の柱状体により構成すれば、より高密度に生体物質などの検体を固定化できるため、検体から発せられる蛍光量をより多くすることができるようになる。

[0041] また、透光性要素を複数の透光性柱状体により構成した場合には、光反射膜の全体がガラスなどの透光性材料で覆われることはないため、透光性柱状体同士の隙間から、誘電体多層膜や金属膜などの光反射膜で反射された蛍光を良好に取り出すことができるようになる。そのため、透光性要素中で光損失が生じるのを有効に抑制で

き、検出精度を高めることができるようになる。

- [0042] 本発明の検出用基板において、透光性柱状体を、温度25℃、湿度60%のときの1平方メートル当たりの表面吸着水量が0.5g以上となるよう形成にすれば、検体固定化物質の表面がより大面積となるため、より多くの検体を固定化できる。このため、検出精度を高めることができるようになる。また、検体固定化膜を被着する際に検体固定化物質と透光性柱状体との間にシランカップリングなどの結合を行なうことが容易となる。そのため、透光性柱状体に対しては、検体固定化膜を強固に、かつより高密度に密着することができるようになる。
- [0043] 本発明の検出用基板において、隣接する透光性柱状体の間に撥水性膜を形成すれば、検体を固定する際に検体溶液が毛管現象によって広がらないようにできるため、小さなスポットに多くの検体溶液を保持させることができる。そのため、透光性柱状体に対して検体を効率よく固定させて、透光性柱状体における検体の単位面積当たりの保持量を多くし、検体から発せられる蛍光量を増大することができる。
- [0044] 本発明の検出用基板において、撥水性膜の上面が透光性柱状体などの透光性要素の上端面よりも低くすれば、撥水性膜の上端面よりも高い位置の透光性要素の側面にも検体を固定できる。このため、検体と反応する蛍光修飾された検体DNAなどの被検出成分も効率よく高密度に固着されるため、被検出成分から発せられる蛍光量を増大させることができるために、受光測定子の受光量が増大して検出精度が向上する。とくに、透光性柱状体などの透光性要素と撥水性膜との高さの差を30nm以上とすれば、隣接する撥水性膜の間に検体を含む検体溶液が十分に入り込むため、検体からの蛍光の強度の低下を抑制することができる。
- [0045] 本発明の検出用基板において、開口部から離れるほど内寸法が漸次小さくなるとともに、直線状に配列された複数の凹部を形成し、凹部の内面に金属膜などの光反射膜、ガラス膜などの透光性要素および検体固定化膜が順次被着すれば、アレー状などに並べられた凹部の各々に異なる検体保持液を滴下して基板上に複数種の蛋白質や細胞を固定化することができ、検出の効率を向上させることができる。
- [0046] 本発明の検出用基板において、凹部の内面の縦断面形状が放物線状となるようにすれば、凹部の底部に保持された検体からの蛍光を指向性高く凹部の上方の蛍光

検出器に向けて発することができ、蛍光の利得をより高めることができる。

[0047] 本発明の検出用基板において、凹部の周辺部には、凹部の開口部の全周を囲むように検体固定化膜の上面に撥水性膜を形成すれば、アレー状などに並べられた凹部から検体溶液がはみ出しても、隣接する凹部に混入することがなく、検出精度を高めることができる。

[0048] 本発明の検出用基板において、撥水性膜の表面における水の接触角を 50° 以上とすれば、生体物質などの検体を含む検体溶液が複数の透光性柱状体に付着するとともに撥水性膜により反発を受けるために毛管現象により広がるのを有効に防止できる。

[0049] 本発明の検出用基板において、撥水性膜を、フッ素樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリスチレン樹脂、ポリイミド樹脂、ポリアセテート樹脂、ポリウレタン樹脂、エポキシ樹脂、フェノールノボラック樹脂、および無機フッ化物(たとえばフッ化カルシウム、フッ化マグネシウムおよびフッ化バリウム)の少なくとも1種を主成分とするものとするれば、これらの成分が高い撥水性を示すため、検出用基板上にスポットされた検体溶液が広がる現象を有効に阻止することができる。このため、検体溶液のスポットの面積が大きくならないため、検体固定化密度の低下が発生しないとともに高密度アレー化が可能になる。

[0050] 本発明の検出用基板において、検体固定化膜を、アミノ基、アルデヒド基、メルカプト基、シラン基およびカルボキシル基のうちの少なくとも1種を有するようにすれば、蛋白質や細胞などの検体の吸着性を高めることができ、より多くの検体を固定して、検出精度を高めることができる。

図面の簡単な説明

[0051] [図1]本発明に係る検出用基板の第1の実施の形態を示す全体斜視図である。

[図2]図1のII-II線に沿う断面図である。

[図3]本発明に係る検出用基板の第2の実施の形態を示す部分断面図である。

[図4]本発明に係る検出用基板の第3の実施の形態を示す部分断面図である。

[図5]本発明に係る検出用基板の第4の実施の形態を示す部分断面図である。

[図6]本発明に係る検出用基板の第5の実施の形態を示す部分断面図である。

[図7]本発明に係る検出用基板の第6の実施の形態を示す部分断面図である。

[図8]本発明に係る検出用基板の第7の実施の形態を示す部分断面図である。

[図9]本発明に係る検出用基板の第8の実施の形態を示す部分断面図である。

[図10]本発明に係る検出用基板の第9の実施の形態を示す部分断面図である。

[図11]本発明に係る検出用基板の第10の実施の形態を示す部分断面図である。

[図12]従来の生体物質検出用基板の一例を示す部分断面図である。

[図13]従来の生体物質検出用基板の他の例を示す部分断面図である。

符号の説明

[0052] X1～X10 検出用基板

11～19, 110 基体

13A, 14A, 15A (基体の)凹部

13B, 14B (凹部の)開口部

21～27, 29, 210 光反射膜

31～37 透光性膜

32A, 37A, 310A 透光性柱状体

41～49, 410 検体固定化膜

55, 58, 59, 510 撥水性膜

66, 67, 69 金属膜

76, 77, 79 誘電体多層膜

発明を実施するための最良の形態

[0053] 以下、本発明に係る検出用基板について、第1ないし第10の実施の形態として、図面を参照しつつ詳細に説明する。

[0054] まず、本発明の第1の実施の形態について、図1および図2を参照して説明する。図1は本発明に係る検出用基板の第1の実施の形態を示す全体斜視図であり、図2は図1のII－II線に沿う断面図である。

[0055] 図1および図2に示した検出用基板X1は、基体11の表面に、光反射膜21、透光性膜31、および検体固定化膜41を順次積層したものである。

[0056] 基体11は、光反射膜21、透光性膜31、および検体固定化膜41を形成するための

ベースとなるものであり、板状に形成されている。この基体11は、たとえばガラス、金属、あるいはセラミックスにより形成されている。ただし、基体11は、表面を鏡面状に平坦化が可能であるとともに、生体物質などの検体の処理に関わる耐薬品性や耐熱耐湿性が満たされるならば、先に例示した材料以外により形成してもよい。

[0057] 光反射膜21は、検体固定化膜41に結合した生体物質から発せられる蛍光を反射させるためのものであり、基体11の表面に膜形成されている。この光反射膜21は、たとえばTi、Cr、Ni、Au、Ag、Pt、Rh、Al、Ni-Cr合金およびFe-Cr-Ni合金のうちの少なくとも一種を主成分とする金属膜として形成されている。例示した金属材料により光反射膜21を形成した場合には、蛍光の反射率を非常に高くすることができるとともに、ガラス成分と光反射膜21との密着性を非常に高くすることができる。さらに、先の金属材料を用いた場合には、光反射膜21の表面に安定な不導体皮膜が形成されるので、光反射膜21の耐薬品性を非常に高くすることができる。

[0058] また、光反射膜21は、透光性膜31との膜密着性を良好なものとするために、たとえばAuやAg等の下地層の上にTiやCr等の密着層を形成したような複数の層からなる構成であってもよい。光反射膜21はまた、蛍光体の励起のための励起光や蛍光体から出射される出射光を反射する皮膜であればよく、基体11や透光性膜31との密着性を確保できる限りは、金属膜以外のものを使用することもできる。

[0059] 光反射膜21の厚みは、0.05～1 μm とするのが好ましい。これは、光反射膜21の厚みが小さすぎる場合には、たとえば光反射膜21を金属膜として形成する場合には、光透過膜21が光を透過するアイランド構造となってしまう一方で、光反射膜21の厚みを0.05 μm 以上とすれば、光を透過しない膜構造とすることができるからであり、また、光反射膜21の厚みが1 μm を超えると、成膜方法にもよるが、光反射膜21の内部応力によりガラス製などの基体11の破壊による膜剥がれが生じやすくなるためである。好ましくは、光反射膜21の厚みは、0.2 μm 程度とされる。そうすれば、光反射膜21の厚みが0.2 μm 程度の場合には、基体11との膜密着性も比較的に高く、また、基体11をガラスにより形成する場合に、薬液の浸透による基体11のガラスのコロージョンが発生しなくなるからである。

[0060] 光反射膜21は、その表面における算術平均粗さRaが0.05 μm 以下となるように

形成するのが好ましい。このような表面粗さを有する光反射膜21では、その表面に凹凸の少ない透光性膜31を形成することが可能となる。その結果、透光性膜31に検体固定化膜41を被着する際に、透光性膜31の表面の凹凸に起因するコート液の塗布ムラが発生するのを有効に防止することができる。また、光反射膜21における表面粗さを小さくすれば、検体固定化膜41に結合した生体物質などの検体から発せられる蛍光が光反射膜21において乱反射してしまうのを抑制できるために、蛍光の利得を高めることができるようになる。

- [0061] 透光性膜31は、検体固定化膜41を固着させるためのものであり、光反射膜21の表面に膜形成されている。この透光性膜31は、検体固定化のための物質が良く固着される材料、たとえばガラス材料により、蛍光の波長の吸収の少ない透明に形成されている。透光性膜31は、その厚みを検体に修飾される蛍光体の発光波長の $1/4$ よりも小さくなるように形成するのが好ましい。これは、透光性膜31の厚みが蛍光体の波長の $1/2$ であれば、干渉による吸収が生じる一方で、透光性膜31の厚みが蛍光体の波長の $1/4$ の厚みであれば、光の干渉による増幅が有るために僅かな膜厚みのばらつきが蛍光強度の測定のばらつきを大きくするからである。
- [0062] また、透光性膜31は、たとえばガラスにより形成されるが、その場合には、成分組成として SiO_2 が70質量%以上含まれているのが好ましい。このような組成の透光性膜31では、検体固定化膜41を形成するための一般的なコート液、たとえばアミノアルキルシランやポリ-L-リジンなどを含むコート液を使用することができるようになる。
- [0063] 検体固定化膜41は、検体中の含まれる目的とする物質を固定化させるためのものであり、複数の領域に離散した状態で透光性膜31の表面に膜形成されている。この検体固定化膜41は、たとえばアミノ基、アルデヒド基、メルカプト基、シラン基およびカルボキシル基のうちの少なくとも1種を有するものとされている。例示した官能基を有する検体固定化膜41では、蛋白質や細胞などの検体の吸着性を高めることができ、より多くの検体を固定して検出精度を高めることができるようになる。
- [0064] このような検体固定化膜41は、たとえばアミノアルキルシランなどのシランカップリング剤あるいはポリ-L-リジンなどのポリ陽イオンを含むコート液を用いて形成することができる。

- [0065] もちろん、検体固定化膜41は、先の成分以外にも、従来より用いられている他のコート液により形成することもでき、また検体固定化膜41は、必ずしも離散的に形成する必要はなく、透光性膜31の全面を覆うように1つの膜として形成してもよい。
- [0066] このような検出用基板X1によれば、光反射膜21において基体11からのバックグラウンドの蛍光を良好に遮断しつつ、検体固定化膜41に結合した検体から発せられる蛍光を高効率で反射させることができるため、蛍光の利得を高くすることができる。また、光反射膜21の表面に透光性膜31を設けていることから、透光性膜31に対して検体固定化膜41を簡便に被着させることができるようになる。
- [0067] 次に、本発明に係る検出用基板の第2の実施の形態について、図3を参照して説明する。図3は、本発明に係る検出用基板の第2の実施の形態を示す部分断面図である。
- [0068] 図3に示した検出用基板X2は、基体12の表面に、光反射膜22、透光性膜32、および検体固定化膜42を形成した点において第1の実施の形態における検出用基板X1(図2参照)と同様である。その一方で、検出用基板X2は、透光性膜32が多数の透光性柱状体32Aからなる点において、検出用基板X1(図2参照)とは異なっている。
- [0069] 透光性膜32は、上述のように、多数の透光性柱状体32Aからなるものである。各透光性柱状体32Aは、たとえばガラスにより形成される。このようなガラスの透光性柱状体32Aからなる透光性膜32は、たとえば成膜手法として低温高ガス圧力スパッタリングや斜め蒸着を採用する一方で、成膜条件を制御することにより形成することができる。
- [0070] 透光性柱状体32Aは、たとえば温度25℃、湿度60%のときの1平方メートル当たりの表面吸着水量が0.5g以上となるよう形成される。このような透光性柱状体32Aでは、その検体固定化膜42の表面積がより大きくなるため、より多くの検体を固定化できる。このため、検出精度を高めることができるようになる。また、検体固定化膜42を被着する際に検体固定化物質と透光性柱状体32Aとの間にシランカップリングなどの結合を行なうことが容易となる。そのため、透光性柱状体32Aに対しては、検体固定化膜42を強固に、かつより高密度に密着することができるようになる。

- [0071] また、透光性柱状体32Aは、その厚み(高さ)が検体固定化膜42に固定される検体から発せられる蛍光の波長と、透光性柱状体3の屈折率と、の積の $1/4$ 倍よりも小さくなるように形成するのが好ましい。この場合には、検体から発せられる蛍光のうち、直接外部に発せられた蛍光と、透光性柱状体32Aを通過して光反射膜22で反射された反射光とが干渉して増幅するのを有効に抑制することができる。そのため、検出用基板X2における全ての位置において、蛍光強度を均一化にし、蛍光強度の測定値に不連続点が生じるのを有効に防止できる。その結果、検出用基板X2における異なる位置において、蛍光強度がばらつくことを抑制できるようになり、安定した測定を行なうことができるようになる。
- [0072] このような検出用基板X2によれば、透光性膜32が複数の透光性柱状体32Aにより形成されているために、透光性膜32における隣接する透光性柱状体32A相互の隙間が比較的に大きなものとなる。そのため、透光性膜32の表面積をきわめて大きく確保できるようになるため、検体固定化膜42に固定化される生体物質などの検体の量を大きく確保することができるため、検体から発せられる蛍光の利得をより高めることができるようになる。また、検出用基板X2では、透光性膜32が多数の透光性柱状体32Aにより構成されているため、光反射膜22の全体が透光性膜32によって覆われることがない。そのため、光反射膜22において反射された検体からの蛍光は、透光性柱状体32Aの隙間から良好に取り出すことができる。その結果、透光性膜32において光損失が生じるのを有効に抑制でき、検出精度を高めることができるようになる。
- [0073] 次に、本発明に係る検出用基板の第3の実施の形態について、図4を参照して説明する。図4は、本発明に係る検出用基板の第3の実施の形態を示す部分断面図である。
- [0074] 図4に示した検出用基板X3は、基体13の表面に、光反射膜23、透光性膜33、および検体固定化膜43を順次積層した点において第1の実施の形態における検出用基板X1(図2参照)と同様である。その一方で、検出用基板X3は、検出用基板X1(図2参照)とは基体13の構成が異なっている。
- [0075] 基体13は、直線状に並ぶ複数の凹部13Aを備えた構成とされており、これの凹部

13Aを含めた基体3の全体を覆うように、光反射膜23、透光性膜33、および検体固定化膜43が順次積層されている。凹部13Aは、下側に向うほど（開口部13Bから離れるほど）、内寸法が小さくなるように形成されている。

[0076] なお、複数の凹部13Aは、図面上では一列だけ表されているが、凹部13Aの列を複数配置したアレー状等に複数の凹部13Aを配置してもよい。

[0077] このような検出用基板X3によれば、基体13の凹部13Aに検体を滴下して凹部13Aごとに異なる検体を保持させることができるようになる。また、凹部13Aを覆うように、光反射膜23、透光性膜33および検体固定化膜43を順次積層するようにすれば、検体の固定化とバックグラウンドの蛍光遮光を良好に行なうことができるようになる。

[0078] また、凹部13Aは、下側に向うほど（開口部13Bから離れるほど）、内寸法が小さくなるように形成されているため、検体固定化膜43に固定化される検体から発せられる蛍光を、凹部13Aの上方に向けて集光させることができる。そのため、検出用基板X3から出射される蛍光の利得を高くすることができるようになり、検出感度を高めることができるようになる。

[0079] 次に、本発明に係る検出用基板の第4の実施の形態について、図5を参照して説明する。図5は、本発明に係る検出用基板の第4の実施の形態を示す部分断面図である。

[0080] 図5に示した検出用基板X4は、複数の凹部14Aを有する基体14の表面に、光反射膜24、透光性膜34、および検体固定化膜44を順次積層した点において第3の実施の形態における検出用基板X3（図4参照）と同様である。その一方で、検出用基板X4は、検出用基板X3（図4参照）とは、凹部14Aの構成が異なっている。

[0081] 凹部14Aは、下側に向うほど（開口部14Bから離れるほど）、内寸法が小さくなるように形成されているとともに、内面の縦断面形状が放物線状となるように形成されている。その一方で、光反射膜24、透光性膜34、および検体固定化膜44は、凹部14Aの内面形状に対応して、その表面の断面形状が放物線状となっている。

[0082] このような検出用基板X4によれば、検体固定化膜44に固定化される生体物質などの検体から発せられる蛍光は、凹部14Aの内面に形成された光反射膜24において反射され、その反射光は指向性高く凹部14Aの直上に向けて進行させられる。その

結果、検体から発せられる蛍光の利得を、さらに高めることができるようになる。

- [0083] 次に、本発明に係る検出用基板の第5の実施の形態について、図6を参照して説明する。図6は、本発明に係る検出用基板の第5の実施の形態を示す部分断面図である。
- [0084] 図5に示した検出用基板X5は、複数の凹部15Aを有する基体15の表面に、光反射膜25、透光性膜35、および検体固定化膜45を順次積層した点において第3の実施の形態における検出用基板X3(図4参照)と同様である。その一方で、検出用基板X5は、検出用基板X3(図4参照)とは、撥水性膜55を有する点において異なっている。
- [0085] 撥水性膜55は、検体固定化膜45に未固着の検体が、隣接する他の凹部15Aに混入するのを抑制するためのものである。撥水性膜55は、複数の凹部15Aのそれぞれの周囲を取り囲むように形成されている。この撥水性膜55は、その表面に撥水性を有していれば何でも良く、単層に形成されたものであっても、複数の皮膜が積層された複合皮膜であっても構わない。
- [0086] ここで、本発明でいう撥水性とは、表面に滴下した水の接触角が 45° 以上のものをいう。撥水性膜55としては、表面に対する水の接触角は 50° 以上のものを使用するのが好ましく、より好ましくは水の接触角が 70° 以上のものが使用される。
- [0087] 撥水性膜55を形成するための材料としては、たとえば撥水系の樹脂撥水性物質やフッ化物を挙げることができ、好ましくは、フッ素樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリスチレン樹脂、ポリアミド樹脂、ポリアセテート樹脂、ポリウレタン樹脂、フッ化カルシウム、フッ化マグネシウムおよびフッ化バリウムの少なくとも1種を主成分とするのを使用することができる。
- [0088] 撥水性膜55は、フッ素化膜として形成する場合には真空蒸着法やスパッタリング法による真空成膜により形成することができる。また、撥水性膜58を樹脂により形成する場合には、先の真空蒸着法の他に、印刷法や溶液への浸漬によって膜形成することもできる。
- [0089] このような検出用基板X5によれば、各々の凹部15Aに保持された検体が相互に接触し、あるいは測定対象となる検体中に他の検体が混入することを適切に抑制できる

ため、測定対象となる検体の測定において、他の検体が悪影響を与えることを適切に抑制することができる。また、隣接する凹部15Aの相互において、検体どうしの相互干渉を抑制できれば、複数の凹部15A配置密度を大きくすることも可能となり、高密度アレー化を実現することができるようになる。

[0090] 次に、本発明に係る検出用基板の第6の実施の形態について、図7を参照して説明する。図7は、本発明に係る検出用基板の第6の実施の形態を示す部分断面図である。

[0091] 図7に示した検出用基板X6は、基体16の表面に、光反射膜26、透光性膜36および検体固定化膜46を順次積層したものであり、基体16、透光性膜36および検体固定化膜46については、先に説明した第1の実施の形態における検出用基板X1 (図2参照)と同様なものとされている。

[0092] 光反射膜26は、金属膜66および誘電体多層膜76を順次積層したものである。

[0093] 金属膜66は、先に説明した検出用基板X1の光反射膜21 (図2参照)を金属膜として形成する場合の金属膜と同様なものとされている。

[0094] 一方、誘電体多層膜76は、いわゆる光学薄膜と呼ばれるものであり、金属膜66での反射光の光量を増加させるためのものである。この誘電体多層膜76は、図面上には明確に表れていないが、複数の誘電体膜が積層されたものである。誘電体多層膜76においては、検体固定化膜46に固定化される検体から発せられる蛍光が、各々の誘電体膜の表面や金属膜66の表面で反射し、それらの反射光が相互に干渉して蛍光強度が高められる。

[0095] このような誘電体多層膜76は、酸化タンタル膜、酸化チタン膜、フッ化カルシウム膜、酸化ジルコニウム膜、および酸化ニオブ膜のうちの少なくとも1つの誘電体膜を含んでいるのが好ましい。例示した誘電体膜を含む誘電体多層膜76では、様々な波長の蛍光を増強することができるとともに、下層にある金属膜66や上層にある透光性膜36との膜密着性を良好なものとすることができる。また、誘電体膜の成膜速度も遅くできるため、正確な膜厚に制御するのが容易となる。

[0096] 誘電体多層膜76を構成する個々の誘電体膜の厚みは、検体固定化膜46に修飾される検体から発せられる蛍光の波長と誘電体膜の屈折率との積の $(2n-1)/4$ 倍 (

n:自然数)とするのが好ましい。このような膜厚の誘電体多層膜76を採用した場合には、各誘電体膜の表面や金属膜66の表面で反射した検体から発せられる蛍光の反射光が、相互に干渉するために蛍光の増強を非常に良好に行なうことができるようになる。その結果、検出用基板X6では、検体からの蛍光の強度を効率良く高めて出射することができる。

[0097] 一方、誘電体多層膜76の厚みは、 $1\mu\text{m}$ 以下とするのが好ましい。これは、誘電体多層膜76を構成する個々の誘電体膜の厚みが先の関係を満たすように形成されている場合には、誘電体多層膜76における誘電体膜の層数が比較的になければ、層数が増えるごとにおよそ $2n$ 乗則の光の干渉作用による増強が得られるが、層数が数十層になると誘電体多層膜13の厚みが大きくなって蛍光の吸収が生じやすくなって増強効率が悪化するからである。

[0098] 次に、本発明に係る検出用基板の第7の実施の形態について、図8を参照して説明する。図8は、本発明に係る検出用基板の第7の実施の形態を示す部分断面図である。

[0099] 図8に示した検出用基板X7は、基体17の表面に、光反射膜27(金属膜67、誘電体多層膜77)、透光性膜37、および検体固定化膜47を形成した点において、先に説明した第6の実施の形態における検出用基板X6(図7参照)と同様なものとされている。その一方で、検出用基板X7は、検出用基板X6(図7参照)とは、透光性膜37および検体固定化膜47の構成が異なっている。

[0100] 検出用基板X7における透光性膜37および検体固定化膜47の構成は、先に説明した第2の実施の形態における検出用基板X2の透光性膜32および検体固定化膜42と同様なものとされている(図3参照)。すなわち、透光性膜37は誘電体多層膜77の表面に形成された複数の透光性柱状体37Aからなる一方で、検体固定化膜47は各透光性柱状体37Aの表面を覆うように形成されている。

[0101] このような検出用基板X7によれば、透光性膜37が複数の透光性柱状体37Aにより構成されているために、透光性膜37における隣接する透光性柱状体37A相互の隙間が比較的になものとなる。そのため、透光性膜37の表面積をきわめて大きく確保できるようになるため、検体固定化膜47に固定化される検体の量を大きく確保し

、検体から発せられる蛍光の利得がより高めることができる。また、検出用基板X7は、表面全面が透光性膜37(透光性柱状体37A)で覆われることはないため、誘電体多層膜77や金属膜67で反射された検体からの蛍光は、透光性柱状体37の隙間から良好に取り出すことができる。そのため、透光性膜37において光損失が生じるのを有効に抑制でき、検出精度を高めることができる。

[0102] 次に、本発明に係る検出用基板の第8の実施の形態について、図9を参照して説明する。図9は、本発明に係る検出用基板の第8の実施の形態を示す部分断面図である。

[0103] 図9に示した検出用基板X8は、基体18の表面に、撥水性膜58、透光性柱状体38A、および検体固定化膜48を形成したものである。

[0104] 撥水性膜58は、この撥水性膜58に付着させる検体を溶解させた検体溶液がぬれ広がるのを防止するためのものである。この撥水性膜58は、その表面が撥水性を有していれば何でも良く、単層に形成されたものであっても、複数の皮膜が積層された複合皮膜であっても構わない。ここで、撥水性の定義については、本発明の第5の実施の形態における検出用基板Xの撥水膜55(図6参照)と同様である。

[0105] このような撥水性膜58は、第5の実施の形態の検出用基板X5の撥水性膜55(図6参照)と同様な材料および手法により形成することができる。第5の実施の形態において例示された撥水性材料を主成分とする撥水性膜58は、高い撥水性を示すため、検出用基板X8上にスポットされた検体溶液が撥水性膜55に反発するために検体溶液が広がるのを有効に阻止することができる。そのため、検体溶液のスポットの面積が大きくならないため、検体固定化密度を低下させることなく、高アレー化が可能になる。

[0106] 撥水性膜58は、フッ化膜として形成する場合には真空蒸着法やスパッタリング法による真空成膜にて形成することができる。また、撥水性膜58を樹脂により形成する場合には、先の真空製膜の他に、印刷法や溶液への浸漬によって膜形成することができる。

[0107] 複数の透光性柱状体38Aは、先に説明した先に説明した第2の実施の形態における検出用基板X2における透光性柱状体32A(図3参照)と、基本的には同様なもの

とされている。すなわち、透光性柱状体38Aは、材質、表面吸着水量、厚みおよび形成方法に関して、検出用基板X2の透光性柱状体32A(図3参照)と同様なものとされている。ただし、複数の透光性柱状体38Aは、隣接するもの同士が互いに間隔をあけて立設されているとともに、各透光性柱状体38Aが羽根状に形成されている。ここで、本発明でいう羽根状とは、1枚の鳥の羽根のような細長い板状のものを示す。

[0108] 検出用基板X8では、複数の透光性柱状体38Aが隣接するもの同士が互いに間隔をあけて立設されていることから、透光性柱状体38Aの表面に被着される検体固定化膜48の比表面積を非常に大きくすることができる。このため、検体固定化膜48は、透光性柱状体38Aに固着できる生体物質量を大きく確保できるようになり、生体物質から発せられる蛍光の強度が高くすることが可能となる。また、透光性柱状体38Aを羽根状に形成すれば、透光性柱状体38Aの比表面積をより大きく確保することか可能となり、透光性柱状体38Aに対する生体物質量をより大きく確保し、生体物質から発せられる蛍光の強度が高くすることが可能となる。

[0109] なお、複数の透光性柱状体38Aは、必ずしも図9に示したように隣接するもの同士が互いに間隔をあけて立設する必要はなく、隣接するもの同士が互いに接するように立設してもよい。

[0110] 次に、本発明に係る検出用基板の第9の実施の形態について、図10を参照して説明する。図10は、本発明に係る検出用基板の第9の実施の形態を示す部分断面図である。

[0111] 図10に示した検出用基板X9は、基体19の表面に、光反射膜29、撥水性膜59、透光性柱状体39A、および検体固定化膜49を形成したものである。この検出用基板X9は、先に説明した第9の実施に形態の検出用基板X8において、基体18と撥水性膜58(図9参照)との間に、光反射膜29を介在させたものに対応している。

[0112] 光反射膜29は、金属膜69および誘電体多層膜79を順次積層したものであり、本発明の第6の実施の形態における検出用基板X6の光反射膜26と同様なものとされている。

[0113] なお、光反射膜29は、誘電体多層膜79を省略して金属膜69のみにより形成してもよく、金属膜69を省略して誘電体多層膜79のみにより形成してもよい。光反射膜29

はまた、金属膜69や誘電体光反射膜79に限定されない。すなわち、光反射膜29は、蛍光体の励起のための励起光や蛍光体から出射される出射光を反射する皮膜であって、基体19および撥水性膜59と密着性が良く、検体の処理に関わる耐薬品性や耐熱耐湿性が満たされ皮膜であればよい。

[0114] また、撥水性膜58は、光反射膜29の表面に形成されるものであるため、撥水性膜59は、真空製膜、印刷法、溶液への浸漬による膜形成の他に、ガスを用いて光反射膜29(金属や酸化膜表面)の撥水化处理することにより形成することもできる。ガスによる撥水性処理は、たとえば真空中にフッ化物を含んだガスを導入してプラズマを発生させて光反射膜29の表面にフッ化層を形成することにより行うことができる。

[0115] このような検出用基板X9によれば、先の検出用基板X8(図9参照)の効果に加えて、撥水性膜58が光反射膜29を介して基体19の表面に形成されているために、次の効果を奏することができる。すなわち、検出用基板X9では、基体19からのバックグラウンドの蛍光が光反射膜29において良好に遮断されるとともに、検体固定化膜49に結合した検体から発せられる蛍光を光反射膜29において高効率で反射させることができる。

[0116] 次に、本発明に係る検出用基板の第10の実施の形態について、図11を参照して説明する。図11は、本発明に係る検出用基板の第10の実施の形態を示す部分断面図である。

[0117] 図10に示した検出用基板X10は、基体110の表面に、光反射膜610、複数の撥水性膜510、複数の透光性柱状体310A、および検体固定化膜410を形成したものである。

[0118] 光反射膜610は、たとえば本発明の第9の実施の形態において先に説明した光反射膜29(図9参照)と同様な構成とされている。

[0119] 複数の透光性柱状体310Aは、先に説明した先に説明した第2の実施の形態における検出用基板X2の透光性膜32の透光性柱状体32A(図3参照)と、基本的には同様なものとされている。すなわち、透光性柱状体38Aは、材質、表面吸着水量、厚みおよび形成方法に関して、検出用基板X2の透光性柱状体32A(図3参照)と同様なものとされている。ただし、複数の透光性柱状体38Aは、隣接するもの同士が互い

に間隔をあけて立設されている。なお、本実施形態でいう柱状とは、円柱状、角柱状、円錐状、多角錐状、薄片状など様々な形状を含んでいる。

- [0120] 隣接した透光性柱状体310A同士の間隔は測定される生物構成物質の厚みの2倍以上がよい。これにより、隣接した透光性柱状体310A間に十分に生物構成物質が充填され、検体固定化膜に固定化されるため、より高密度に生物構成物質が捕集される。このため、生物構成物質から出射する蛍光強度がより高くすることができる。
- [0121] 複数の撥水性膜510は、隣接するもの同士が互いに間隔をあけ、かつ透光性柱状体310Aに対して隙間を介して配置されている。すなわち、複数の撥水性膜510は、島状に点在するように設けられている。もちろん、撥水性膜は、隣接する撥水性膜510が繋がった1つも膜として形成してもよい。
- [0122] 撥水部材510はまた、透光性柱状体310Aよりも厚み(高さ)が小さくされている。これにより、透光性柱状体310Aの根元まで検体固定化膜410を被着することが可能となって検体が透光性柱状体310Aの根元まで到達し、単位面積当たりの検体の固定割合を大きく確保できるようになる。
- [0123] ここで、撥水性膜510の高さは、低ければ低い方がよいが、0.5nm以上であるのが好ましい。これは、撥水性膜510の高さが0.5nm未満になると、透光性柱状体310Aの毛管現象を阻害する性能が低下するからである。また、透光性柱状体310Aと撥水性膜4の高さの差は30nm以上であるのが好ましい。これは、透光性柱状体310Aと撥水性膜510の高さの差は30nm未満であると、隣接する撥水性膜510の間に生物構成物質を含む溶液が十分に入り込まないために検体から出射される蛍光強度が低下しやすくなるからである。
- [0124] このような検出用基板X10では、複数の撥水性膜510が透光性柱状体310Aとの間に隙間を介して配置されているため、透光性柱状体310Aの側面にも検体固定化膜410を被着できるとともに、透光性柱状体310Aの表面全体に検体を被着できるようになる。とくに、撥水性膜510を島状に形成した場合には、透光性柱状体310Aと撥水性膜4との間に隙間を多く形成することができ、この隙間に検体が入り込んで検体固定化膜410に固定される検体の量を多くすることができる。

実施例 1

- [0125] 本実施例では、本発明に係る第1の実施の形態の検出用基板X1 (図1および図2参照)において、検体固定化膜41を透光性膜(ガラス膜)31の全面に形成した検出用基板について評価した。
- [0126] 本実施例で用いる検出用基板は、次のようにして作成した。
- [0127] まず、基体11として、硼珪酸ガラスにより、サイズが26mm×76mm×1.1mmに形成されたものを準備した。基体11は、アルカリ脱脂を行って十分に純水洗した後、希塩酸にて中和処理を行い、十分に純水洗し、さらに希弗酸液にてガラス表面をライトエッチングした後、十分に純水洗を行った。その後、アルコール置換した後にアルコール蒸気乾燥を行った。
- [0128] 乾燥した基体11に対しては、スパッタ装置にて光反射膜(金属膜)21としてのTi膜を、透光性膜(ガラス膜)31としてのSiO₂膜を順次、所定の厚みに成膜した(下記表1および表2参照)。SiO₂の成膜に当たっては、膜の緻密性にも考慮した。
- [0129] 光反射膜(金属膜)21および透光性膜(ガラス膜)31を成膜した基体11は、アルカリ脱脂を行って十分に純水洗した後、希塩酸にて中和処理を行い、十分に純水洗し、アルコール置換した後にアルコール蒸気乾燥を行った。
- [0130] 次に、透光性膜(ガラス膜)31の表面に検体固定化膜41を形成した。検体固定化膜41は、生膜終了後の基体11を3-アミノプロピルトリエトキシシラン(以下「APS」という)のコート液に30秒浸漬した後に、リンス、乾燥、キュアを行うことにより形成した。
- [0131] コート液としては、溶媒としてのイソプロピルアルコール(以下「IPA」という)94体積%に対してAPSが4体積%となるように混合した後に、純水を2体積%添加して直ちに良く攪拌して調製したものを使用した。リンスは、IPAを用いて5秒間行なった。乾燥は、リンサードライヤーにて行なった。キュアは、150℃にて10分間行なった。
- [0132] 作成された検出用基板に対しては、オリゴDANを固定化した。オリゴDANとしては、5'末端をCy3蛍光体にて修飾した15塩基長のものを用いた。このオリゴDNAは、0.5 μMとなるように純水に溶解してスポット液とした後に検出用基板にスポットし、湿潤箱に25℃にて12時間放置することにより検出用基板に固定した。オリゴDNAを固定化した検出用基板は、クエン酸緩衝液にて洗浄した後に純水リンスを行い、ブロー乾燥させた。

[0133] 一方、比較例として、硼珪酸ガラスに検体固定化膜を直接形成したものを使用した。硼珪酸ガラスの処理および検体固定化膜の形成については、本発明の検出用基板と同様にして行なった。

[0134] また、検出用基板の蛍光強度の測定は、励起波長532nmにてスキャニングし、そのときに得られる波長が538nm蛍光の受光量を数値化することにより行なった。蛍光強度の測定結果については、下記表1および表2に示した。なお、DNAの評価としては、蛍光強度が50以上有れば可能である。

[0135] [表1]

No.	金属膜		ガラス膜				蛍光強度 (一)				
	物質	厚み (μ m)	物質	SiO ₂ 比率(%)	厚み (nm)	538nm 比率					
1	Cr	0.03	SiO ₂	100%	50	0.09	113				
2		0.05				0.09	249				
3		0.10				0.09	302				
4		0.20				0.09	359				
5		0.03				0.09	362				
6		0.50				0.09	—				
7		0.2						10	0.02	41	
8								20	0.04	132	
9								30	0.06	312	
10								50	0.09	370	
11								125	0.23	365	
12								130	0.24	373-549	
13								140	0.26	381-532	
14								150	0.28	367	
15								Ti	50	0.09	113
16								Ni-Cr		0.09	276
17		Fe-Cr-Ni			0.09	321					
18	Cr	SiO ₂ /MgO	90%	0.09	343						
19		SiO ₃ /MgO/Al ₂ O ₃	70%	0.09	136						
20		SiO ₃ /MgO/Al ₂ O ₃ 他	63%	0.09	49						

[0136] 表1のNo. 1～No. 6の結果から分かるように、光反射膜(金属膜)21をCrにより形成した場合には、光反射膜(金属膜)21の厚みが0.03～0.3 μm の範囲では蛍光強度が高く、好適な結果が得られた。特に、光反射膜(金属膜)21の厚みが0.2～0.3 μm の場合には、非常によい結果を示した。なお、光反射膜(金属膜)21の厚みが0.5 μm 以上の場合には、光反射膜(金属膜)21の内部応力のため、基体11のガラスが破損して不適であった。

[0137] 一方、表1のNo. 15～No. 17の結果から分かるように、光反射膜(金属膜)21をCr以外の金属(Ti、Ni-Cr、Fe-Ni-Cr)で形成した場合であっても、光反射膜(金

属膜) 21の厚みが0. 2である場合には、良好な結果が得られた。

[0138] また、表1のNo. 7～No. 14の結果から分かるように、透光性膜(ガラス膜) 31の厚みが20～125nmの場合には、蛍光強度が高く、好適な結果が得られた。特に、透光性膜(ガラス膜) 31の厚みが30～125nmの場合には、蛍光強度について非常によい結果が得られた。その一方で、透光性膜(ガラス膜) 31の厚みがCy3の蛍光波長538nmの4分の1波長となる135nm前後の厚みの場合には、光の干渉による部分的な蛍光強度のばらつきが発生していた。このばらつきは解析上不利なため、透光性膜(ガラス膜) 31の厚みは、検体から発せられる蛍光の波長の1/4より小さいことがより好ましいことがわかった。

[0139] さらに、表1のNo. 18～No. 20の結果から分かるように、透光性膜(ガラス膜) 31の材質については、透光性膜(ガラス膜) 31をガラスにより形成する場合には、酸化珪素の質量が70%以上のときに蛍光強度について良い結果を示した。その一方で、酸化珪素の質量が63%では蛍光強度が弱かった。そのため、透光性膜(ガラス膜) 31の酸化珪素濃度は、70質量%以上がより好ましいことがわかった。

[0140] [表2]

No.	金属膜			ガラス膜			蛍光強度 (－)
	材料	厚み(μm)	Ra(μm)	物質	SiO ₂ 比率	厚み(nm)	
1	Cr	0.2	0.10	SiO ₂	100%	50	46
2			0.05				210
3			0.02				378

[0141] 表2から分かるように、光反射膜(金属膜) 21の算術平均粗さRaが0. 05 μm 以下の場合に蛍強度が強く、好適な結果が得られた。その一方で、光反射膜(金属膜) 21の算術平均粗さRaが0. 1以上の場合には、蛍光強度が弱かった。そのため、光反射膜(金属膜) 21の表面における算術平均粗さRaは、0. 05 μm 以下が好ましいことが分かった。

実施例 2

[0142] 本実施例では、本発明に係る検出用基板の第6または第7の実施の形態における検出用基板X6, X7(図5および図6参照)について評価した。

[0143] 本実施例で用いる検出用基板は、次のようにして作成した。まず、基体16, 17とし

て、実施例1と同様に硼珪酸ガラス製のものを用い、実施例1と同様に基体16, 17の前処理、金属膜66, 67の形成を行なった。次に、金属膜66, 67の上面に誘電体膜多層膜76, 77と成る2種の誘電体膜を光学薄膜用蒸着装置によって交互に成膜した。なお、誘電体層76, 77を構成する誘電体膜の厚みは、使用する検体に修飾される蛍光体の蛍光波長と誘電体膜の屈折率との積の1/4倍となるようにした。

[0144] さらに、誘電体多層膜76, 77の上面に透光性膜(ガラス膜)36, 37として SiO_2 膜を所定の厚みに成膜した。 SiO_2 の成膜に当たっては膜が稠密とならないように加熱温度や成膜速度および真空度について配慮した。

[0145] 成膜の終わった基体16, 17はRCA洗浄を行って十分に純水洗浄した後、アルコール置換し、アルコール蒸気乾燥を行った。

[0146] 次に、透光性膜(ガラス膜)36, 37の表面に検体固定化膜46, 47を形成するとともに、オリゴDNAを固定化した。検体固定化膜46, 47の形成、使用したオリゴDNAの種類および固定化手法は、実施例1と同様にして行なった。

[0147] 一方、比較例として、実施例1と同様の検出用基板を用いた。

[0148] 検出用基板の蛍光強度の測定は、実施例1と同様に行い、膜密着性はテープピーリングテストを行って、膜はがれの無い物を○、少しでもはがれた物を×として評価した。蛍光強度の測定結果および膜密着性の評価結果については、下記表3および表4に、比較例についての蛍光強度の測定結果については表5に示した。なお、表4における透光性膜(ガラス膜)36, 37の比表面積は、吸着水分量を測定し、それを数値化することにより測定した。鏡面状態のガラス膜の吸着水分量を1とした際、透光性膜(ガラス膜)36, 37が柱状化して比表面積が増加するとこれに比例して吸着水分量も増加するため、吸着水分量に基づいて比表面積を求めることができるからである。

[0149] [表3]

No.	金属膜		誘電体多層膜				ガラス膜	蛍光強度 (—)	膜 密着性
	材料	厚み (μm)	誘電体膜A	層数	誘電体膜B	層数	厚み (μm)		
1	Cr	0.03	酸化タンタル	1	酸化チタン	1	0.030	45	○
2		0.05						340	○
3		0.20						485	○
4		0.50						491	○
5		1.00						—	×
6	Ti	0.20	酸化タンタル	2	酸化チタン	1	0.030	248	○
7								663	○
8								1193	○
9								614	○
10								647	○
11								679	○
12								695	○
13								655	○
14								719	○
15								639	○
16								658	○
17								86	○
18	Cr	0.20	酸化ニオブ	1	酸化ジルコニウム	1	0.030	729	○
19								756	○
20								802	○
21								792~928	○
22								756~898	○
23								603	○
24								205	○
24			フッ化カルシウム	1	—	—	—	—	○

[0150] 表3のNo. 1～No. 5の結果から分かるように、金属膜66, 67をCrにより形成した場合には、厚みが $0.03\mu\text{m}$ では蛍光強度は低いが、金属膜66, 67の厚みが $0.05\sim 0.5\mu\text{m}$ の範囲では蛍光強度が高く、好適な結果が得られた。なお、金属膜66, 67の厚みが $1.0\mu\text{m}$ 以上の場合には、金属膜66, 67の内部応力のため、基体16, 17のガラスが破損して不適であった。

[0151] 一方、表3のNo. 9～No. 16の結果から分かるように、金属膜66, 27をCr以外の金属(Ti, Ni, Au, Pt, Rh, Al, Ni—Cr, Fe—Ni—Cr)で形成した場合については、各金属によって若干の差はあるものの、大きな蛍光強度の劣化はなかった。

[0152] また、表3のNo. 3, No. 6～No. 8の結果から分かるように、誘電体多層膜66, 67の層数が多いほど、蛍光強度は飛躍的に向上した。

[0153] さらに、表3のNo. 7, No. 17～No. 22の結果から分かるように、透光性膜(ガラス膜)36, 37の厚みが $0.2\mu\text{m}$ では蛍光強度は低く、明らかな効果は得られていないが、透光性膜(ガラス膜)36, 37の厚みが $0.03\mu\text{m}$ 以上では大きな効果が得られた。また、蛍光波長 540nm 前後に対して蛍光体の波長と透光性膜(ガラス膜)36, 37の屈折率との積の $1/4$ の厚みに相当する 130nm 程度の厚み以上の場合には、透光

性膜(ガラス膜) 36, 37の膜厚みばらつき起因と考えられる蛍光強度のばらつきが発生した。このため、透光性膜(ガラス膜) 36, 37の厚みは、測定波長と透光性膜(ガラス膜) 36, 37の屈折率との積の $1/4$ よりも小さいほうがより好ましいことがわかった。

[0154] また、表3のNo. 23、No. 24の結果から分かるように、誘電体多層膜66, 67を構成する誘電体膜として酸化ニオブ、酸化ジルコニウムおよびフッ化カルシウムを用いた場合であっても、同等の結果が得られた。

[0155] [表4]

No.	金属膜			誘電体多層膜				ガラス膜			蛍光強度 (-)
	材料	厚み (μm)	Ra (μm)	誘電体膜A	層数	誘電体膜B	層数	厚み (μm)	比表面積 比(-)	SiO ₂ 比 率(%)	
25	Cr	0.2	0.01	酸化タンタル	1	酸化チタン	1	0.035	1.1	100	411
26			0.05						1.1	100	409
27			0.10						1.1	100	115
28			0.05						1.1	100	482
29			0.05						5	100	876
30			0.05						10	100	1315
31			0.05						1.1	80	386
32			0.05						1.1	70	287
33			0.05						1.1	62	122

[0156] 表4のNo. 25～No. 27から分かるように、金属膜66, 67の表面における算術平均粗さRaが $0.05\mu\text{m}$ 以下の場合には、高い蛍光測定強度を示した一方で、算術平均粗さRaが $0.1\mu\text{m}$ では蛍光測定強度は大幅に低下した。これは、金属膜66, 67の表面の凹凸により蛍光が乱反射したためと考えられる。このように、金属膜66, 67の算術平均粗さRaは、 $0.05\mu\text{m}$ 以下がより好ましいことがわかった。

[0157] 表4のNo. 26、No. 29、No. 30から分かるように、比表面積が5倍、10倍になるに従って蛍光測定強度は飛躍的に大きくなった。このため、透光性膜(ガラス膜) 36, 37は比表面積が大きくなるような柱状形状に形成するのがより好ましいことがわかった。

[0158] 表4のNo. 30～No. 33の結果から分かるように、透光性膜(ガラス膜) 36, 37の酸化珪素の質量割合が70%以上の場合には良い結果を示したが、酸化珪素の質量割合が63%の場合には蛍光強度が弱かった。そのため、透光性膜(ガラス膜) 36, 37の酸化珪素濃度は、70質量%以上がより好ましいことがわかった。

[0159] [表5]

No.	基体	金属膜	誘電体多層膜	ガラス膜	蛍光強度 (-)
	表面粗さ Ra (μ m)				
34	0.05	無し	無し	無し	143

[0160] 表5は比較例の結果であるが、金属膜および誘電体反射膜を形成せずに、ガラス基体上に直接生体物質固定化膜を行った例である。

実施例 3

[0161] 本実施例では、本発明に係る検出用基板の第8および第9の実施の形態における検出用基板X8, X9(図9および図10参照)について評価した。

[0162] 本実施例で用いる検出用基板は、次のようにして作成した。まず、基体18, 19として、実施例1と同様に硼珪酸ガラス製のものを用い、実施例1と同様に基体18, 19の前処理を行い、必要に応じて、実施例1と同様に金属膜69の形成を行なった。さらに、必要に応じて、実施例2と同様に金属膜69の上面に誘電体膜多層膜79と成る2種の誘電体膜を光学薄膜用蒸着装置によって交互に成膜した。なお、誘電体多層膜79を構成する誘電体膜の厚みは、使用する検体に化学的に修飾される蛍光体の蛍光波長と誘電体膜の屈折率との積の1/4倍となるようにした。

[0163] 次に、基体18または誘電体膜多層膜79の上面に撥水性膜58, 59を形成した。撥水性膜58, 59は、撥水性樹脂より形成する場合には、撥水性樹脂を含む原料液体をスピンコートにより塗布した後に乾燥を行い、必要に応じてキュアを行なって撥水性樹脂を熱硬化させた。また、撥水性膜58, 59は、表面を弗化物ガスにてプラズマ処理して撥水化処理を行うことによっても形成した。さらに、撥水性膜58, 59としてフッ化膜を形成する際には誘電体膜多層膜79と同様に光学薄膜用蒸着装置によって成膜した。

[0164] 次に、撥水性膜58, 59の上面に、多数の透光性柱状体38A, 39Aとしての SiO_2 柱状体を所定の厚みに成膜してガラス膜を形成した。 SiO_2 の成膜に当たっては膜が稠密とならないように加熱温度や成膜速度および真空度について配慮した。

[0165] 成膜の終わった基体18, 19はRCA洗浄を行って十分に純水洗浄した後、アルコール置換し、アルコール蒸気乾燥を行った。

[0166] 次に、ガラス膜(多数の透光性柱状体38A, 39A)の表面に検体固定化膜48, 49

を形成するとともに、オリゴDNAを固定化した。検体固定化膜48、49の形成、使用したオリゴDNAの種類および固定化手法は、実施例1と同様に行なった。

[0167] 一方、比較例としては、実施例1における比較例と同様な検出用基板を用いた。

[0168] また、検出用基板の蛍光強度の測定は、実施例1と同様に行なった。蛍光強度の測定結果については、下記表6ないし表9に示した。比較例についての蛍光強度の測定結果については表10に示した。なお、薄膜の厚みは500nm以下の物は実際の測定が難しいため、成膜レートからの換算値である。

[0169] [表6]

No.	光反射膜			撥水性膜		ガラス膜		蛍光強度
	金属膜		誘電体多層膜					
	材料	厚み (nm)	材料	材料	厚み (nm)	材料	厚み (nm)	
1	-	-	-	弗化マグネシウム	1	SiO ₂	60	832
2	-	-	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	925
3	-	-	-	弗化マグネシウム	10	SiO ₂	60	903
4	-	-	-	テフロン樹脂	5000	SiO ₂	60	781
5	-	-	-	ポリプロピレン樹脂	5000	SiO ₂	60	689
6	-	-	-	ポリエチレン樹脂	5000	SiO ₂	60	537
7	-	-	-	ポリスチレン樹脂	5000	SiO ₂	60	576
8	-	-	-	ポリイミド樹脂	5000	SiO ₂	60	625
9	-	-	-	ポリアセテート樹脂	5000	SiO ₂	60	479
10	-	-	-	ポリウレタン樹脂	5000	SiO ₂	60	595
11	-	-	-	フッ化カルシウム	5	SiO ₂	60	754
12	-	-	-	フッ化バリウム	5	SiO ₂	60	646
13	Cr	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	2437
14	Ti	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1854
15	Ni	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	2532
16	Au	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1733
17	Ag	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1459
18	Pt	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1646
19	Ph	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1848
20	Al	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	2476
21	Ni-Cr合金	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	2007
22	Fe-Cr-Ni合金	200	-	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	2634
23	Cr	90	酸化タンタル	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	4547
24	Cr	90	酸化チタン	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	6741
25	Cr	90	フッ化カルシウム	ポリイミド樹脂	5000	SiO ₂	60	1547
26	Cr	90	フッ化マグネシウム	ポリイミド樹脂	5000	SiO ₂	60	2013
27	Cr	90	酸化ジルコニウム	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	5470
28	Cr	90	酸化ニオブ	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	4693

[0170] 表6のNo. 1～12の結果から分かるように、ガラス製の基体18に撥水性膜58を成

膜してから、ガラス膜(多数の透光性柱状体38A)として SiO_2 を60nmの厚みに着膜しただけでも、測定された蛍光強度は400以上と高い値の測定がなされた。なお、撥水性膜58の厚みや材料により、測定値は振れているが、本発明の本質に関わる物ではない。

[0171] また、表6のNo. 13～21の結果から分かるように、撥水性膜59の下地に金属膜69を着膜した場合には、いずれも蛍光強度が1400以上とより高い値を示した。なお、金属膜69の材料により、測定値は振れているが、本発明の本質に関わる物ではない。また、No. 1～12にて撥水性膜58の効果は明らかなため、撥水性膜59としては弗化マグネシウムを代表として記載した。

[0172] さらに、表6のNo. 22～28の結果から分かるように、金属膜69と撥水性膜59の間に誘電体反射膜79を挿入して蛍光強度を測定した場合には、1500以上の更に高い蛍光強度が測定された。

[0173] [表7]

No.	撥水性膜			ガラス膜		蛍光強度 (—)
	材料	厚み(nm)	接触角 (°)	材料	厚み (nm)	
29	Ti膜	1000	42	SiO_2	60	85
30	ポリイミド樹脂	10000	51	SiO_2	60	576
31	テフロン樹脂	10000	70	SiO_2	60	727
32	弗化マグネシウム	5	85	SiO_2	60	925

[0174] 表7から分かるように、撥水性膜58の表面に対する水の接触角度に依っての蛍光強度の変化が観測された。撥水性膜58の表面に対する水の接触角が 50° 以下となるように処理したTi膜の場合、蛍光強度は低いが、接触角が 50° を越えると蛍光強度が高くなることが分かる。これは、撥水性膜58を設けることにより、隣接する透光性柱状体38Aの間での毛管現象が阻害され、オリゴDNAを含んだ溶液が広がらないためである。そのため、撥水性膜58(59)としては、接触角としては 50° 以上であるのが好ましいことが分かる。

[0175] [表8]

No.	光反射膜(金属膜)			撥水性膜		ガラス膜		蛍光強度 (-)
	材料	厚み (nm)	Ra (μm)	材料	厚み (nm)	材料	厚み (nm)	
33	Cr	200	0.01	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1217
34	Cr	200	0.03	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	925
35	Cr	200	0.05	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	741
36	Cr	200	0.07	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	276
37	Cr	200	0.09	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	198

[0176] 表8から分かるように、金属膜69の算術表面粗さRaが0.05 μm 以下の場合には、鏡面的な反射により、蛍光強度は高いが、金属膜69の算術表面粗さRaが0.05 μm を越えると、乱反射の効果が大きくなって蛍光強度が低くなった。そのため、金属膜69は、その表面の算術表面粗さRaが0.05 μm 以下となるように形成するのが好ましいことがわかる。

[0177] [表9]

No.	撥水性膜		ガラス膜			蛍光強度 (-)
	材料	厚み (nm)	材料	厚み (nm)	吸着水量 (g)	
38	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	0.45	151
39	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	0.50	453
40	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	0.67	637
41	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	0.91	811
42	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1.25	898
43	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1.44	925
44	弗化マグネシウム	5	SiO ₂	60	1.98	1076

[0178] 表9から分かるように、ガラス膜(多数の透光性柱状体39A)の表面吸着水の1平方メートル当たりの吸着水量が0.5gを越えると、蛍光強度が大きくなることが判明した。これは、透光性柱状体39Aの形状は、より比表面積が大きいほど効果が高いことを示している。表9の結果はさらに、蛍光強度が高くなる比表面積の閾値が、吸着水量を基準とすると、表面吸着水の1平方メートル当たりの吸着水量が0.5gであることを示している。

[0179] [表10]

No.	光反射膜		撥水性膜	ガラス膜	蛍光強度 (－)
	金属膜	誘電体多層膜			
45	無し		無し	無し	78

[0180] 表10は比較例である。本発明の特徴であるガラス膜(多数の透光性柱状体38A, 39A)や撥水性膜58, 59や金属膜69及び誘電体反射膜79を形成せずに、ガラス基体上に検体固定化膜を直接形成した例である。

実施例 4

[0181] 本実施例では、本発明に係る検出用基板の第10の実施の形態における検出用基板X10(図11参照)について評価した。

[0182] 本実施例で用いる検出用基板は、次のようにして作成した。まず、基体110として、実施例1と同様に硼珪酸ガラス製のものを用い、実施例1と同様に基体110の前処理、光反射膜610としての金属膜の形成を行なった。光反射膜(金属膜)610は、Crにより形成した。

[0183] 次に、光反射膜610の上面に弗化マグネシウムから成る撥水性膜510を光学薄膜用蒸着装置によって成膜した。なお、撥水性膜510の被着の際は成膜条件を調整することにより、島状(図11の態様)や膜状に形成した。

[0184] 次に、撥水性膜510の隙間に透光性柱状体310Aとして SiO_2 を成膜した。この際、 SiO_2 の成膜に当たっては膜が稠密とならないように加熱温度や成膜速度および真空度について配慮し、隙間の多い柱状の析出をするようにした。また、斜め蒸着も行い薄片状の透光性柱状体310Aも形成した。

[0185] 成膜の終わった基体110はRCA洗浄を行って十分に純水洗浄した後、アルコール置換し、アルコール蒸気乾燥を行った。

[0186] 次に、透光性柱状体310Aの表面に検体固定化膜410を形成するとともに、オリゴDNAを固定化した。検体固定化膜410の形成、使用したオリゴDNAの種類および固定化手法は、実施例1と同様にして行なった。

[0187] 一方、比較例としては、実施例1と同様な検出用基板を使用した。

[0188] また、検出用基板の蛍光強度の測定は、実施例1と同様にして行なった。蛍光強度

の測定結果については、下記表11に示した。

[0189] [表11]

	No.	基材	光反射膜	透光性柱状体				撥水性膜			固定化膜	蛍光強度 (-)
			材料	材料	形状	高さ (nm)	材料	形状	高さ (nm)			
本発明例	1	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	60	MgF ₂	島状	0.3	APS	17	
	2	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	60	MgF ₂	島状	0.5	APS	51	
	3	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	60	MgF ₂	島状	1	APS	89	
	4	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	60	MgF ₂	島状	10	APS	581	
	5	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	60	MgF ₂	島状	50	APS	178	
	6	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	90	MgF ₂	島状	10	APS	893	
	7	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	120	MgF ₂	島状	10	APS	1450	
	8	ガラス	Cr	SiO ₂	柱状	90	MgF ₂	膜状	10	APS	987	
	9	ガラス	Cr	SiO ₂	薄片状	60	MgF ₂	島状	10	APS	2546	
	10	ガラス	Ti	SiO ₂	柱状	60	MgF ₂	島状	10	APS	422	
	11	ガラス	Ti	SiO ₂	薄片状	60	MgF ₂	島状	10	APS	890	
比較例	12	ガラス	Cr	無し				無し			APS	2
	13	ガラス	Ti								APS	5

[0190] 表1から分かるように、透光性柱状体310Aを柱状または薄片状に形成するとともに、膜状や島状の撥水性膜510を設けた場合には、蛍光強度が高く、優れた検出用基板となる。

[0191] なお、本発明は上述の最良の形態および実施例に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲で種々の変更を行うことは何等差し支えない。

請求の範囲

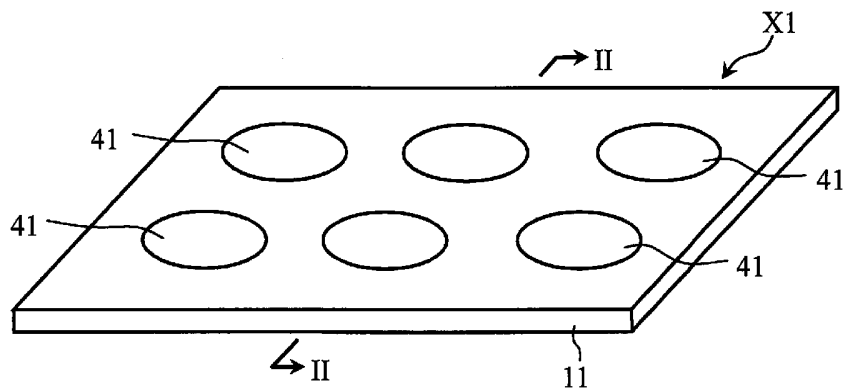
- [1] 基体上に、光反射膜、透光性要素、および検体固定化膜が形成されている、検出用基板。
- [2] 基体と、
前記基体上に形成された撥水性膜と、
前記撥水性膜の表面に立設された複数の透光性柱状体からなる透光性要素と、
前記透光性柱状体の表面に形成された検体固定化膜と、
を備えている、検出用基板。
- [3] 前記撥水性膜は、光反射膜を介して前記基体の表面に形成されている、請求項2記載の検出用基板。
- [4] 前記光反射膜は、金属膜を含んでいる、請求項1または3に記載の検出用基板。
- [5] 前記金属膜は、Ti、Cr、Ni、Au、Ag、Pt、Rh、Al、Ni-Cr合金およびFe-Cr-Ni合金のうちの少なくとも1種を主成分としている、請求項4に記載の検出用基板。
- [6] 前記金属膜は、Ti、Cr、Ni-Cr合金およびFe-Cr-Ni合金のうちの少なくとも1種を主成分としている、請求項5に記載の検出用基板。
- [7] 前記金属膜は、TiまたはCrを主成分としている、請求項6に記載の検出用基板。
- [8] 前記金属膜は、その表面の算術平均粗さRaが $0.05\mu\text{m}$ 以下とされている、請求項4に記載の検出用基板。
- [9] 前記光反射膜は、前記金属膜の表面に形成された反射光増幅用の誘電体多層膜をさらに含んでいる、請求項4に記載の検出用基板。
- [10] 前記誘電体多層膜は、酸化タンタル膜、酸化チタン膜、フッ化カルシウム膜、フッ化マグネシウム膜、酸化ジルコニウム膜および酸化ニオブ膜のうちの少なくとも1つの誘電体膜を含んでいる、請求項9に記載の検出用基板。
- [11] 前記誘電体多層膜を構成する個々の誘電体膜は、その厚みが前記検体固定化膜に化学的に修飾される検体から発せられる蛍光の波長と前記誘電体膜の屈折率との積の $(2n-1)/4$ 倍(n :自然数)とされている、請求項9に記載の検出用基板。
- [12] 前記誘電体多層膜は、その厚みが $1\mu\text{m}$ 以下である、請求項9に記載の検出用基板。

- [13] 前記透光性要素は、酸化珪素の含有量が70質量%以上とされている、請求項1または2に記載の検出用基板
- [14] 前記透光性要素は、その厚みが前記検体固定化膜に修飾される検体から発せられる蛍光の波長と透光性要素の屈折率との積の $1/4$ より小さくされている、請求項1または2に記載の検出用基板。
- [15] 前記透光性要素は、前記光反射膜の表面に立設させた複数の透光性柱状体から成る、請求項1に記載の検出用基板。
- [16] 前記透光性柱状体は、羽根状である、請求項2または15に記載の検出用基板。
- [17] 前記透光性柱状体は、温度25℃、湿度60%のときの1平方メートル当たりの表面吸着水量が0.5g以上である、請求項2または請求項15に記載の検出用基板。
- [18] 前記複数の透光性柱状体は、隣接するもの同士が互いに接している、請求項2または請求項15に記載の検出用基板。
- [19] 前記複数の透光性柱状体は、隣接するもの同士が互いに間隔をあけて設けられている、請求項2または請求項15に記載の検出用基板。
- [20] 互いに隣接する透光性柱状体の間に存在する撥水性膜を備えている、請求項19に記載の検出用基板。
- [21] 前記撥水性膜の表面が前記透光性柱状体の上端面よりも低くされている、請求項20に記載の検出用基板。
- [22] 前記撥水性膜と前記透光性柱状体との高さの差は、30nm以上である、請求項21に記載の検出用基板。
- [23] 前記基体は、直線状に配列された複数の凹部を有しており、
前記各凹部は、開口部から離れるほど内寸法が漸次小さくなるとともに、その内面に、前記光反射膜、前記透光性要素および前記検体固定化膜が順次被着されている、請求項1に記載の検出用基板。
- [24] 前記凹部は、その内面の縦断面形状が放物線状とされている、請求項23に記載の検出用基板。
- [25] 前記凹部の開口部の全周を囲むように前記検体固定化膜の上面に形成された撥水性膜をさらに備えている、請求項23に記載の検出用基板。

- [26] 前記撥水性膜は、その表面における水の接触角が 50° 以上である、請求項2、請求項20または請求項25に記載の検出用基板。
- [27] 前記撥水性膜は、フッ素樹脂、ポリプロピレン樹脂、ポリエチレン樹脂、ポリスチレン樹脂、ポリイミド樹脂、ポリアセテート樹脂、ポリウレタン樹脂、エポキシ樹脂、フェノールノボラック樹脂、および無機フッ化物の少なくとも1種を主成分としている、請求項2、請求項20または請求項25に記載の検出用基板。
- [28] 前記検体固定化膜は、アミノ基、アルデヒド基、メルカプト基、シラン基およびカルボキシル基のうちの少なくとも1種を有している、請求項1に記載の検出用基板。

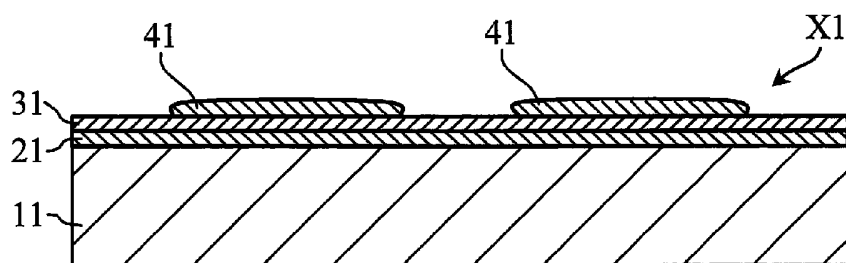
[図1]

FIG.1



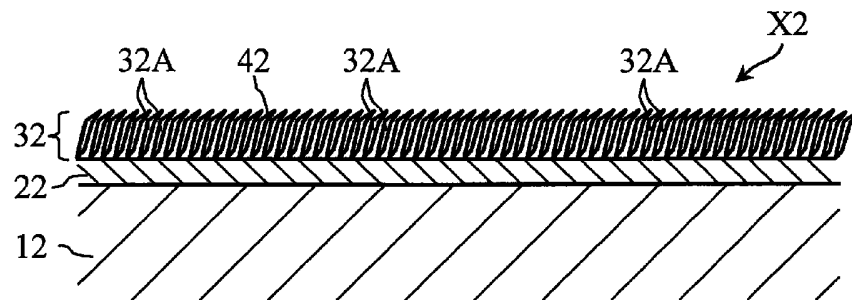
[図2]

FIG.2



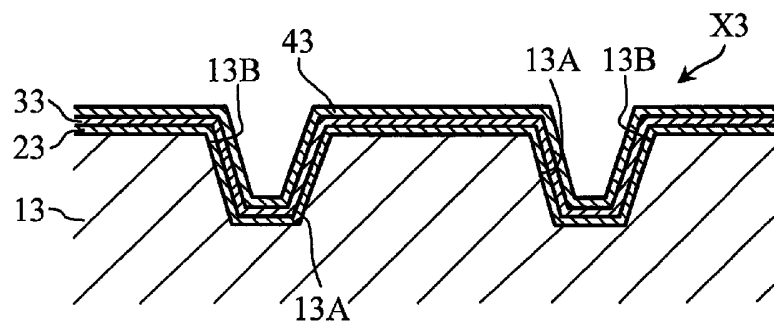
[図3]

FIG.3



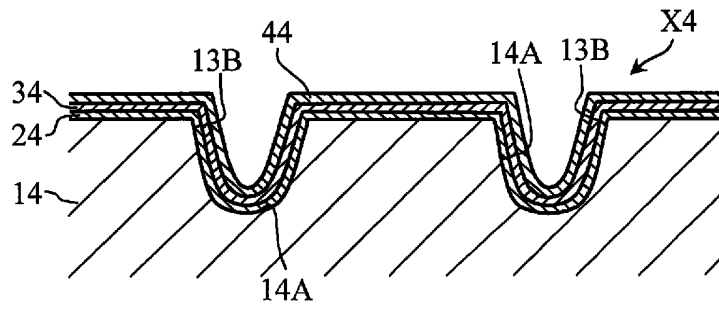
[図4]

FIG.4



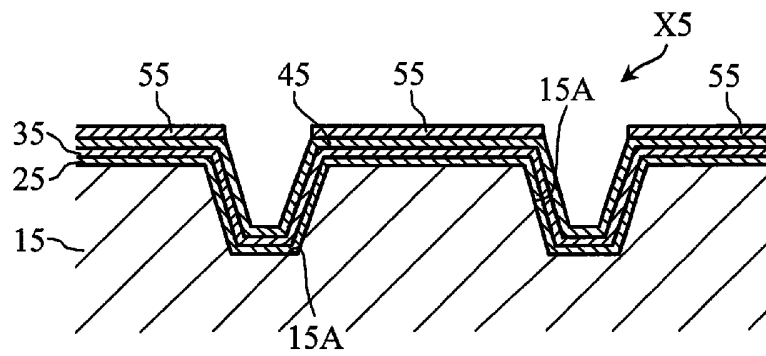
[図5]

FIG.5



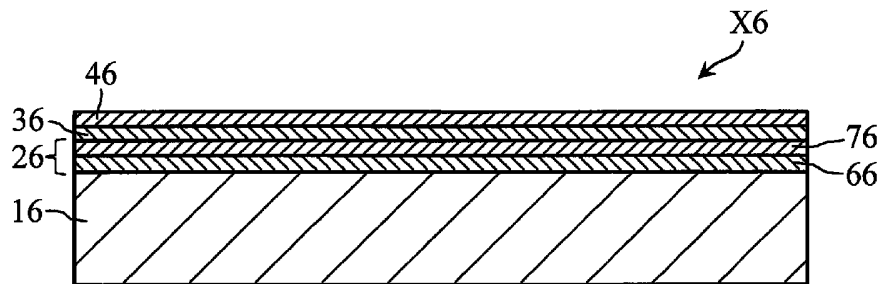
[図6]

FIG.6



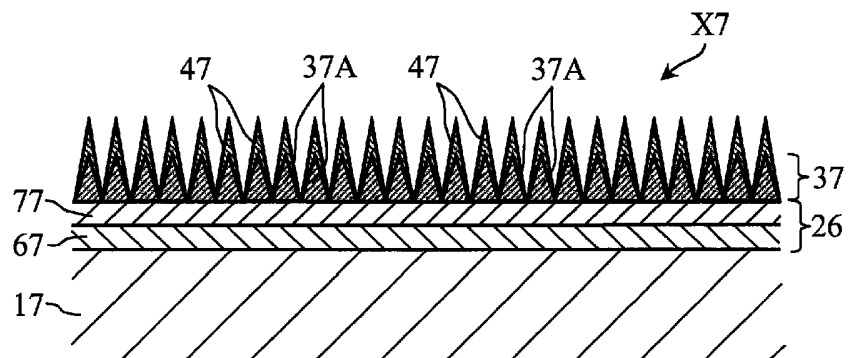
[図7]

FIG.7



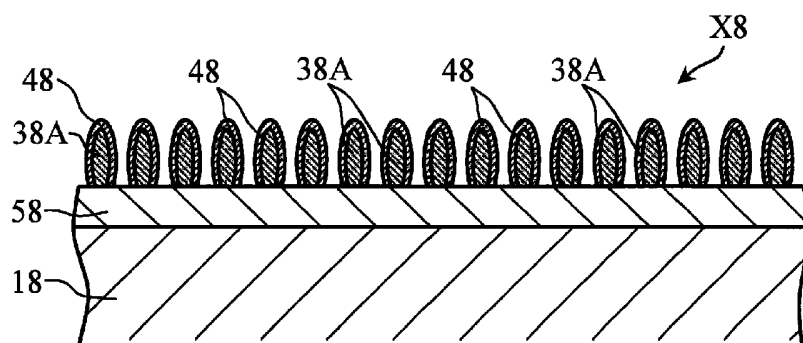
[図8]

FIG.8



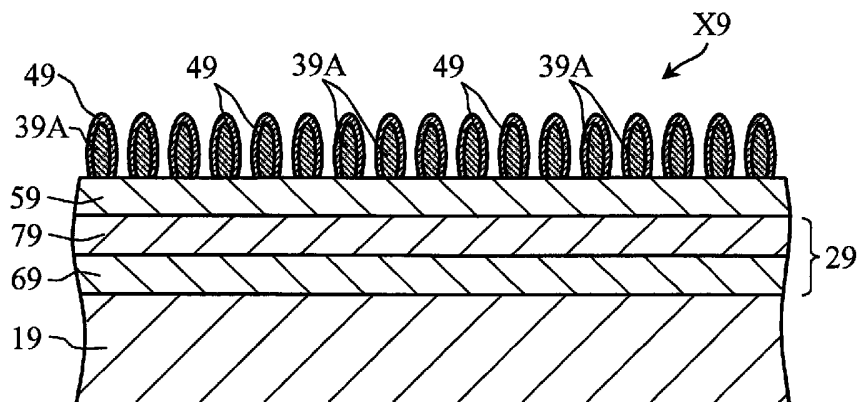
[図9]

FIG.9



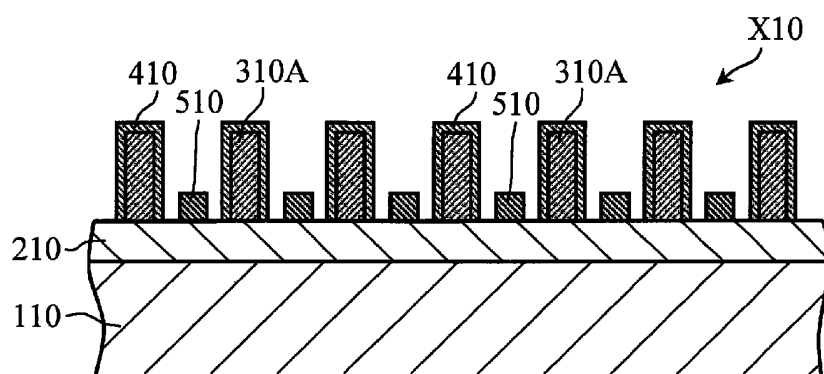
[図10]

FIG.10



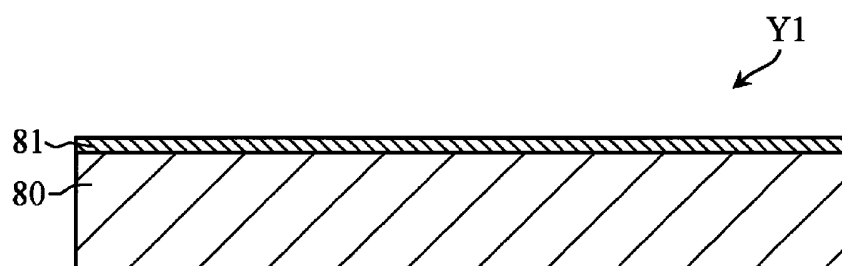
[図11]

FIG.11



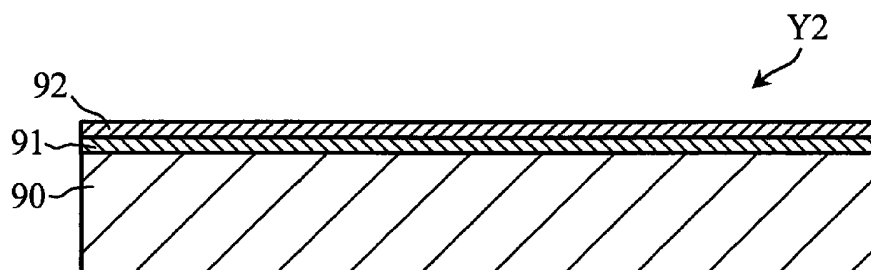
[図12]

FIG.12



[図13]

FIG.13



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/303199

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER G01N33/53 (2006.01), G01N21/64 (2006.01), G01N21/03 (2006.01), G01N37/00 (2006.01) 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) G01N21/03, G01N21/64, G01N33/53, G01N37/00 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 1996-2006 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2006 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2006 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.
X/Y	JP 2004-535585 A (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)), 25 November, 2004 (25.11.04), Claims; Par. No. [0019] & WO 2003/008957 A & US 2004/0248122 A1 & EP 1412753 A	1, 4-7, 28/2, 3, 9-12, 14-16, 18-27
Y	JP 2003-009859 A (Nippon Sheet Glass Co., Ltd.), 14 January, 2003 (14.01.03), Claims (Family: none)	2, 3, 9-12, 14-16, 18-27
Y	JP 2004-205340 A (Casio Computer Co., Ltd.), 22 July, 2004 (22.07.04), Claims; Par. No. [0099] & WO 2004/059006 A1	9-12, 14-16, 18-26
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 April, 2006 (11.04.06)		Date of mailing of the international search report 18 April, 2006 (18.04.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/303199

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 2003-035710 A (Dainippon Printing Co., Ltd.), 07 February, 2003 (07.02.03), Fig. 2 (Family: none)	14-16, 18-26
A	JP 2004-151109 A (Agilent Technologies Inc.), 27 May, 2004 (27.05.04), & US 2004/0086869 A1 & EP 1415715 A1	1-28
A	JP 2003-021635 A (Dainippon Printing Co., Ltd.), 24 January, 2003 (24.01.03), (Family: none)	1-28
A	JP 2003-185662 A (Massachusetts Institute of Technology), 03 July, 2003 (03.07.03), & US 5846708 A1 & EP 0638173 A & WO 1993/022678 A2	1-28

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/303199

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The matter common to the inventions of claims 1 and 2 is a detection substrate making use of a "light transmission element" and an "analyte immobilization film" in the construction thereof. However, as described in the reference (1), the use of a "light transmission element" and an "analyte immobilization film" in the detection substrate is a generally known technology. Consequently, the use of a "light transmission element" and an "analyte immobilization film" in the detection substrate cannot be recognized as being a technical feature contributory over the prior art. Therefore, as the inventions of claims 1 and 2 cannot be stated as having special technical features, it does not appear that this group of inventions is linked with each other so as to form a single general inventive concept.

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee..
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） Int.Cl. G01N33/53 (2006.01), G01N21/64 (2006.01), G01N21/03 (2006.01), G01N37/00 (2006.01)			
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. G01N 21/03, G01N 21/64, G01N 33/53, G01N 37/00			
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 1971-2006年 日本国実用新案登録公報 1996-2006年 日本国登録実用新案公報 1994-2006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 請求の範囲の番号	
X/Y	JP 2004-535585 A（サントル ナショナル ドゥ ラ．ルシェ ル シュ シアンティフィク）2004.11.25, 【特許請求の範囲】、【001 9】& WO 2003/008957 A & US 2004/0248122 A1 & EP 1412753 A	1, 4-7, 28/ 2, 3, 9-12, 14- 16, 18-27	
Y	JP 2003-009859 A（日本板硝子株式会社）2003.01.14, 【特許請求 の範囲】（ファミリーなし）	2, 3, 9-12, 14- 16, 18-27	
Y	JP 2004-205340 A（カシオ計算機株式会社）2004.07.22, 【特許請 求の範囲】、【0099】 & WO 2004/059006 A1	9-12, 14-16, 18-26	
☒ 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日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 11.04.2006		国際調査報告の発送日 18.04.2006	
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） 小原 博生 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2J 3496

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 請求の範囲の番号
Y	JP 2003-035710 A (大日本印刷株式会社) 2003.02.07, 【図 2】(ファミリーなし)	14-16, 18-26
A	JP 2004-151109 A(アジレント・テクノロジーズ・インク)2004.05.27 & US 2004/0086869 A1 & EP 1415715 A1	1-28
A	JP 2003-021635 A (大日本印刷株式会社) 2003.01.24 (ファミリーなし)	1-28
A	JP 2003-185662 A (マサチューセッツ・インスティテュート・オブ・ テクノロジー) 2003.07.03 & US 5846708 A1 & EP 0638173 A & WO 1993/022678 A2	1-28

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1及び2に係る発明の共通事項は、「透光性要素」と「検体固定化膜」を構成に用いた検出用基板であるが、例えば文献1に記載されているとおり、「透光性要素」と「検体固定化膜」を検出用基板に用いることは、周知の技術であるから、当該「透光性要素」と「検体固定化膜」を検出用基板として用いることを、先行技術に対して貢献する技術的特徴と認めることができない。してみると、請求の範囲1及び2に係る発明は特別な技術的特徴を有するものとはいえないから、これらの一群の発明は単一の一般的発明概念を形成するように連関しているとは認められない。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☒ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。