(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 2 月 20 日(20.02.2014)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2014/027448 A1

(51) 国際特許分類:
G01N 21/65 (2006.01) *G01N 21/01* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2013/004717

(22) 国際出願日: 2013 年 8 月 5 日(05.08.2013)

(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 2012-180009 2012 年 8 月 15 日(15.08.2012) JP
特願 2013-033523 2013 年 2 月 22 日(22.02.2013) JP

(71) 出願人: 富士フイルム株式会社(**FUJIFILM CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1068620 東京都港区西麻布２丁目２６番３０号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 納谷　昌之(**NAYA, Masayuki**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地　富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP). 山添　昇吾(**YAMAZOE, Shogo**); 〒2588577 神奈川県足柄上郡開成町牛島５７７番地　富士フイルム株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 柳田　征史, 外(**YANAGIDA, Masashi** et al.); 〒2220033 神奈川県横浜市港北区新横浜３－１８－３　新横浜ＫＳビル　７階　柳田国際特許事務所 Kanagawa (JP).

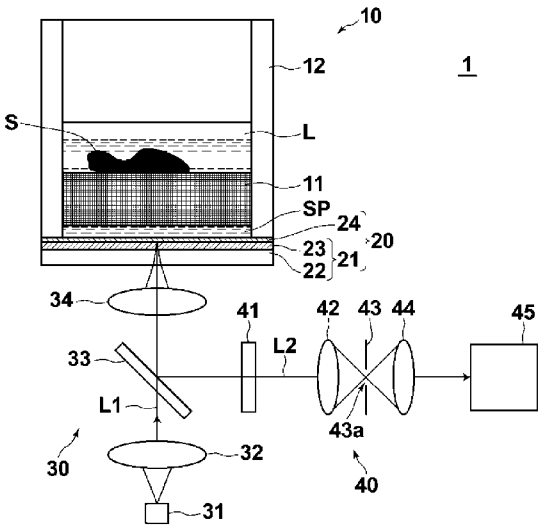
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, 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.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (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

[続葉有]

(54) **Title**: OPTICAL ELECTRIC FIELD AMPLIFICATION DEVICE, AND LIGHT MEASUREMENT APPARATUS AND METHOD

(54) 発明の名称 : 光電場増強デバイス、光測定装置および方法



(57) **Abstract**: [Problem] An optical electric field amplification device equipped with a metallic micro-relief structure, wherein cells of a subject, such as a living organism, are held without killing the same, and the Raman spectrum, etc. of a substance discharged from the subject are measured with high accuracy. [Solution] An optical electric field amplification device (10) equipped with: a transparent substrate (21) having a transparent micro-relief structure on the surface thereof; and a metallic film (24) formed on the transparent micro-relief structure (23) on the surface of the transparent substrate (21). The optical electric field amplification device (10) generates an amplified optical electric field on the surface of the metallic film (24) using an optical electric field amplification effect on localized plasmons induced on the surface of the metallic film (24) by light emitted onto the micro-relief structure on which the metallic film (24) is formed. The optical electric field amplification device (10) is equipped with a support member (11) for supporting a subject (S) in a position spaced apart from the surface of the metallic film (24).

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2014/027448 A1

(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)）

— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正を受理した際には再公開される。（規則 48.2(h)）

【課題】微細な金属凹凸構造を備えた光電場増強デバイスにおいて、生体などの被検体の細胞を死滅させることなく保持し、被検体から放出された物質のラマンスペクトルなどを高精度に測定する。【解決手段】表面に透明な微細凹凸構造を備えてなる透明基板（２１）とその表面の微細凹凸構造（２３）表面に形成された金属膜（２４）とを備え、その金属膜（２４）が形成された微細凹凸構造に照射された光により、金属膜（２４）の表面に誘起された局在プラズモンの光電場増強効果によって、その表面に増強された光電場を発生する光電場増強デバイス（１０）であって、金属膜（２４）表面から間隔をあけた位置で被検体（Ｓ）を支持する支持部材（１１）を備える。

明　細　書

発明の名称 ： 光電場増強デバイス、光測定装置および方法

技術分野

[0001] 本発明は、局在プラズモンを誘起する微細な金属凹凸構造を備えた光電場増強デバイス、その光電場増強デバイスを用いて増強された光を測定する光測定装置および方法に関するものである。

背景技術

[0002] 従来、金属表面における局在プラズモン共鳴現象による光電場増強効果を利用したセンサデバイスやラマン分光用デバイスなどの光電場増強デバイスが知られている。ラマン分光法は、物質に単波長光を照射して得られる散乱光を分光して、ラマン散乱光のスペクトル（ラマンスペクトル）を得る方法であり、このスペクトルを解析することによって物質の同定などを行うことができる。

[0003] 上述したラマン分光法として、微弱なラマン散乱光を増強するために局在プラズモン共鳴によって増強された光電場を利用した、いわゆる表面増強ラマン（SERS）と呼ばれる方法がある（特許文献１、特許文献２および非特許文献１～３参照））。

[0004] この方法は、金属体、特に表面にナノオーダの凹凸を有する金属体に物質を接触させた状態で光を照射すると、局在プラズモン共鳴による光電場増強が生じ、金属体表面に接触された試料のラマン散乱光強度が増強されるという原理を利用するものである。

[0005] 具体的には、たとえば表面に金属微細凹凸構造を備えた基板が用いられ、この基板の金属膜上に被検体を設置し、その被検体設置箇所に向かって励起光を照射することによって表面増強ラマン分光法を実施することができる。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：特表２００６－５１４２８６号公報

特許文献2：特開２０１２－２１１８３９号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：戸田、半那、谷著、日本写真学会誌 70,38(2007)

非特許文献2：Optics Express, Vol.17, No.21, 18556

非特許文献3：Nano Letters, Vol.19, No.6, 2343

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] しかしながら、たとえば生体の被検体から放出される代謝物などのラマンスペクトルを測定する際、金属膜上に被検体を直接設置した場合には、たとえば銀などの殺菌作用によって細胞が死滅して被検体が破壊されるおそれがある。また、金属膜上に直接設置された被検体自身が障害となって被検体から放出された代謝物が金属膜上に十分に拡散および付着せず、代謝物のラマンスペクトルを高精度に測定することができない問題がある。

[0009] 本発明は、上記事情に鑑み、生体などの被検体の細胞を死滅させることなく保持し、被検体から放出された物質のラマンスペクトルなどを高精度に測定することができる光電場増強デバイスと、その光増強デバイスを用いた光測定装置および方法とを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明の光電場増強デバイスは、表面に透明な微細凹凸構造を備えてなる透明基板とその表面の微細凹凸構造表面に形成された金属膜とを備え、その金属膜が形成された微細凹凸構造に照射された光により、金属膜の表面に誘起された局在プラズモンの光電場増強効果によって、その表面に増強された光電場を発生する光電場増強デバイスであって、金属膜表面から間隔をあけた位置で被検体を支持する支持部材を備えたことを特徴とする。

[0011] また、上記本発明の光電場増強デバイスにおいては、支持部材を、被検体から放出された物質を透過するものとできる。

[0012] また、金属膜上に液体を保持する液体保持部を設けることができる。

[0013] また、支持部材を、生体の被検体から放出された代謝物を透過するものとできる。

[0014] また、支持部材を、多孔質フィルタから構成することができる。

[0015] また、支持部材を、複数の貫通孔が形成されたものとできる。

[0016] また、支持部材と金属膜との間に空隙を設けることができる。

[0017] また、微細凹凸構造をベーマイトから形成することができる。

[0018] また、金属膜を金または銀から形成することができる。

[0019] 本発明の光測定装置は、上記光電場増強デバイスと、光電場増強デバイスの金属膜に対して励起光を照射する励起光照射部と、光電場増強デバイスへの励起光の照射により発生し、透明基板側から射出された光を検出する光検出部とを備えたことを特徴とする。

[0020] また、上記本発明の光測定装置においては、励起光によって光電場増強デバイスの金属膜上を２次元状に走査させる走査機構を設けることができる。

[0021] 本発明の光測定方法は、上記光電場増強デバイスの金属膜に対して励起光を照射し、光電場増強デバイスへの励起光の照射により発生し、透明基板側から射出された光を検出することを特徴とする。

発明の効果

[0022] 本発明の光電場増強デバイスによれば、表面に透明な微細凹凸構造を備えてなる透明基板とその表面の微細凹凸構造表面に形成された金属膜とを備えた光電場増強デバイスにおいて、金属膜表面から間隔をあけた位置で被検体を支持する支持部材を設けるようにしたので、被検体が金属膜に直接接触することがないので被検体の細胞が死滅してしまうのを防止することができる。

[0023] さらに、支持部材として、被検体から放出された物質を透過するものを用いるようにした場合には、被検体から放出された物質が支持部材を透過して金属膜まで到達することができるので、金属膜近傍の上記物質のラマンスペクトルなどを高精度に測定することができる。

[0024] また、上記本発明の光電場増強デバイスにおいて、金属膜上に液体を保持

する液体保持部を設けるようにした場合には、被検体から放出された物質を液体中に十分に拡散させることができ、金属膜に十分な量の物質を付着させることができる。

図面の簡単な説明

[0025] [図1]本発明の光電場増強デバイスおよび光測定装置の一実施形態を用いたラマン散乱光測定装置の概略構成を示す図

[図2A]図１に示すラマン散乱光測定装置が備える光電電場増強デバイスに設けられた光電場増強基板を示す斜視図

[図2B]図２Ａに示した光電場増強基板の側面の一部IIＢの拡大図

[図3]光電場増強基板の作製方法を示す各工程における断面図

[図4]光電場増強デバイスのその他の実施形態を示す図

[図5]光電場増強デバイスのその他の実施形態を示す図

[図6]光電場増強デバイスにおける支持部材のその他の実施形態を示す図

[図7]図１に示すラマン散乱光測定装置に対して光電場増強デバイスを移動させる移動ステージを設けた図

発明を実施するための形態

[0026] 以下、本発明の光測定装置および方法の一実施形態を用いたラマン散乱光測定装置について、図面を参照しながら詳細に説明する。図１は、本実施形態のラマン散乱光測定装置１の概略構成を示すブロック図である。

[0027] ラマン散乱光測定装置１は、図１に示すように、被検体Ｓが設置される光電場増強デバイス１０と、光電場増強デバイス１０の光電場増強基板２０の裏面側（透明基板側）から励起光Ｌ１を照射する励起光照射部３０と、光電場増強基板２０の金属膜２４近傍の物質から発せられ光電場増強基板２０の作用により増強されたラマン散乱光Ｌ２を、光電場増強基板２０の裏面側から検出するための光検出部４０とを備えている。

[0028] まず、光電場増強デバイス１０について説明する。本実施形態の光電場増強デバイス１０は、図１に示すように、光電場増強基板２０と、光電場増強基板２０の金属膜２４上に液体Ｌを保持する液体保持部１２と、液体保持部

１２内に設けられ、金属膜２４から間隔をあけた位置で被検体Ｓを支持し、かつ被検体Ｓから放出された物質を透過する支持部材１１とを備えている。

[0029] 図２Ａは、光電場増強デバイス１０における光電場増強基板２０のみを示す斜視図であり、図２Ｂは、図２Ａに示した光電場増強基板２０の側面の一部IIＢの拡大図である。

[0030] 光電場増強基板２０は、図２Ａおよび図２Ｂに示すように、表面に微細凹凸構造２３を備えた透明基板２１と、その微細凹凸構造２３の表面に形成された金属膜２４とからなるものである。金属膜２４が微細凹凸構造２３に沿って形成されることによって金属微細凹凸構造が構成されている。

[0031] この光電場増強基板２０は、金属膜２４が形成された微細凹凸構造２３（金属微細凹凸構造）に励起光Ｌ１が照射されることによって、局在プラズモン共鳴が誘起され、この局在プラズモン共鳴により金属膜２４の表面に増強された光電場を発生するものである。

[0032] 透明基板２１は、ガラスなどからなる透明基板本体２２と、透明基板本体２２とは異なる材料からなる微細凹凸構造２３とから構成されている。

[0033] そして、本実施形態における微細凹凸構造２３は、ベーマイトから形成されるものである。微細凹凸構造２３は、その表面に金属膜２４を形成した場合の金属微細凹凸構造の凸部の深さの平均およびピッチの平均が、励起光Ｌ１の波長より短くなるように形成されるものであるが、金属微細凹凸構造の表面に局在プラズモンを生じさせうるものであればよい。特に、微細凹凸構造２３は、凸部頂点から隣接する凹部の底部までの深さの平均が２００ｎｍ以下、凹部を隔てた最隣接凸部の頂点同士のピッチの平均が２００ｎｍ以下であることが望ましい。

[0034] 金属膜２４は、励起光の照射を受けて局在プラズモンを生じうる金属からなるものであればよいが、たとえば、Ａｕ、Ａｇ、Ｃｕ、Ａｌ、Ｐｔ、およびこれらを主成分とする合金からなる群より選択される少なくとも１種の金属からなるものである。特には、ＡｕあるいはＡｇが好ましい。

[0035] 金属膜２４の膜厚は、微細凹凸構造２３の表面に形成されたときに、金属

微細凹凸構造として励起光の照射を受けて局在プラズモンを生じうる凹凸形状を維持することができる程度の厚みであれば特に制限はないが、１０～１００ｎｍであることが好ましい。

[0036] ここで、図３を用いて、本実施形態における光電場増強基板２０の作製方法について説明する。図３は光電場増強基板２０の各作製工程における断面図を示すものである。

[0037] まず板状の透明基板本体２２を用意する。透明基板本体２２は純水洗浄する。その後、透明基板本体２２の表面にスパッタ法によりアルミニウム２３ａを数十ｎｍ程度成膜する。

[0038] その後、純水を沸騰させた中に、アルミニウム２３ａ付き透明基板本体２２を浸水させ、数分（５分程度）後に取り出す。この煮沸処理（ベーマイト処理）により、アルミニウム２３ａは透明化し、微細凹凸構造２３が形成される。微細凹凸構造２３上に金属膜２４を蒸着させる。以上の処理により光電場増強基板２０を作製することができる。

[0039] なお、金属膜２４は、蒸着に限らず、たとえば金属の微粒子を固定化して形成するようにしてもよい。

[0040] また、上述した煮沸処理による微細凹凸構造作製工程において水熱反応させる金属としては、上述したアルミニウムに代えてアルミナ（$Al(OH)_3$）のような金属酸化物を用いてもよい。アルミニウムおよびアルミナは、水熱反応させることにより、バイヤーマイト（$Al[OH]_3$）またはベーマイト（ＡｌＯＯＨ）のいずれか、または両方からなる複雑な三角錐構造を有する微細凹凸構造を基板上に形成することができる。なお、アルミニウムの他、チタン（Ｔｉ）など、同様に水熱反応により微細凹凸構造を形成する金属も用いることができる。

[0041] また、金属あるいは金属酸化物を透明基板本体２２に成膜する方法は、スパッタ法に限らず、加熱蒸着法やゾルゲル法を用いてもよい。

[0042] また、水熱反応としては、煮沸処理に限らず、金属または金属酸化物が成膜された基板を高温の水蒸気に曝して金属または金属酸化物を高温の水蒸気

と反応させる処理を行ってもよい。

[0043] そして、上述した光電場増強基板２０の金属膜２４上には、光電場増強基板２０を底面とし、筒状の側壁部を有する液体保持部１２が設けられている。液体保持部１２は、生体の被検体Ｓの細胞が死滅しないように維持させるとともに、被検体Ｓから放出された物質を拡散するための溶液Ｌが貯留され、これを保持するものである。液体保持部１２に保持される溶液Ｌとしては、たとえばリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）などがある。

[0044] また、液体保持部１２内には、上述したような被検体Ｓを支持する支持部材１１が設けられている。本実施形態の支持部材１１は、たとえばミクロンオーダまたはサブミクロンオーダの多数の孔を有する多孔質フィルタから構成されるものである。

[0045] このような多孔質フィルタは、その厚さは数１０μｍ～数１００μｍ程度であり、ポリスチレンなどの樹脂やセラミックなどの材料から形成されるものである。具体的には、たとえば、ポリカーボネート製のISOPORE（登録商標） Membrane filter（ミリポア社）、親水性ＰＴＦＥ（ポリテトラフルオロチレン）製のオムニポア（登録商標）、セルロース混合エステル製のＭＦ-ミリポア（商品名）、親水性ＰＶＤＦ（ポリビニリデンフロライド）製のデュラポア（商品名）、無機酸化アルミ製のアノディスク（商品名）などを好適に用いることができる。

[0046] また、支持部材１１の上で細胞を培養する場合には、オートクレーブ処理などの滅菌処理を施したものが好ましい。細胞培養用のメンブレンウエルとして市販されている例えばコスモ・バイオ（株）製インターセル（商品名）滅菌済みのものを用いる事もできる。

[0047] この多孔質フィルタからなる支持部材１１は、生体の被検体Ｓの細胞が死滅しないように維持したり、細胞の培養を行ったりできるものであり、かつ被検体Ｓから放出された代謝物などの物質を透過するものである。支持部材１１上に設置された被検体Ｓは、液体保持部１２に保持された溶液Ｌに被検体刺激物が添加された際に代謝物を放出し、その代謝物は支持部材１１を透

過して光電場増強基板２０の金属膜２４の表面近傍に到達する。これにより代謝物のラマン散乱光が測定される。被検体Ｓから放出される代謝物としては、たとえばＡＴＰ（アデノシン三リン酸）やＣａ（カルシウム）などがある。

[0048] また、細胞の大きさは一般に１μｍ～１００μｍ程度の範囲である事から、多孔質フィルタの細孔径の好ましい範囲は上限が１μｍ以下が好ましく、上述したＡＴＰ（アデノシン三リン酸）やＣａ（カルシウム）などの代謝物が容易に通過できる点で２ｎｍ以上が好ましい。０．０３μｍ～１μｍの範囲が入手性の点でより好ましい。

[0049] また、多孔質フィルタからなる支持部材１１は、被検体Ｓから放出される物質以外のゴミなどを留める機能も果たすものである。

[0050] また、本実施形態においては、図１に示すように、支持部材１１と光電場増強基板２０の金属膜２４との間に空隙ＳＰが設けられている。この空隙ＳＰは、支持部材１１を透過した代謝物などが、この空隙ＳＰの溶液Ｌにおいて十分拡散するように設けられたものである。この空隙ＳＰは、たとえば１μｍ～５ｍｍの間隔で設けられるものである。また、代謝物が多孔質フィルタからなる支持部材１１を容易に透過できるように、必要に応じて空隙ＳＰを減圧する構成としてもよい。

[0051] 励起光照射部３０は、励起光Ｌ１を射出する半導体レーザ光源３１と、この半導体レーザ光源３１から射出された励起光Ｌ１を透過し、かつその励起光Ｌ１の照射により光電場増強基板２０の金属膜２４近傍の物質から射出されたラマン散乱光Ｌ２を含む光を光検出部４０側へ反射するハーフミラー３３と、ハーフミラー３３を透過した励起光Ｌ１を光電場増強基板２０の金属膜２４近傍に集光するとともに、ラマン散乱光Ｌ２を平行光化するレンズ３４とを備えている。

[0052] 光検出部４０は、ハーフミラー３３により反射されてきた光のうち励起光Ｌ１を除去し、それ以外の光を透過するノッチフィルタ４１と、ノイズ光を除去するためのピンホール４３ａを備えたピンホール板４３と、光電場増強

基板２０の金属膜２４近傍の物質から発せられ、レンズ３４およびノッチフィルタ４１を透過した増強ラマン散乱光Ｌ２を、ピンホール４３ａへ集光するためのレンズ４２と、ピンホール４３ａを通過したラマン散乱光Ｌ２を平行光化するレンズ４４と、ラマン散乱光Ｌ２を検出する分光器４５とを備えている。

[0053] 次に、本実施形態のラマン散乱光測定装置１を用いて、被検体Ｓから放出された代謝物などのラマンスペクトルを測定する方法について説明する。

[0054] まず、光電場増強デバイス１０における支持部材１１上に被検体Ｓが設置されるとともに、液体保持部１２内に被検体Ｓが浸かるように溶液Ｌが貯留される。

[0055] 次に、励起光照射部３０の半導体レーザ光源３１から励起光Ｌ１が射出され、励起光Ｌ１はハーフミラー３３を透過してレンズ３４で集光されて、光電場増強基板２０上の金属膜２４近傍に照射される。

[0056] 励起光Ｌ１の照射によって光電場増強基板２０の金属微細凹凸構造において局在プラズモン共鳴が誘起され、金属膜２４表面に増強された光電場が発生する。金属膜２４近傍の物質から発せられ、光電場により増強されたラマン散乱光Ｌ２は、レンズ３４を透過して、ハーフミラー３３によって分光器４５側に反射される。なお、このとき、光電場増強基板２０で反射された励起光Ｌ１もハーフミラー３３によって反射されて分光器４５側に反射されるが、励起光Ｌ１はノッチフィルタ４１によって除去される。

[0057] 一方、励起光Ｌ１とは波長が異なる光はノッチフィルタ４１を透過し、レンズ４２によってピンホール４３ａに集光され、ピンホール４３ａを透過した光はレンズ４４によって平行光化され、分光器４５へ入射される。なお、本実施形態におけるラマン散乱光測定装置１においては、レーリー散乱光あるいはミー散乱光などは、その波長が励起光Ｌ１と同じであるため、ノッチフィルタ４１によってカットされ、分光器４５へ入射することはない。ラマン散乱光Ｌ２は、分光器４５に入射してラマンスペクトル測定が行われる。

[0058] 上記実施形態のラマン散乱光測定装置１によれば、表面に透明な微細凹凸

構造を備えてなる透明基板２１とその表面の微細凹凸構造表面に形成された金属膜２４とを備えた光電場増強デバイス１０において、金属膜２４表面から間隔をあけた位置で被検体Ｓを支持し、かつその被検体Ｓから放出された物質を透過する支持部材１１を設けるようにしたので、被検体Ｓが金属膜２４に直接接触することがないので被検体Ｓの細胞が死滅してしまうのを防止することができ、さらに、被検体から放出された物質が支持部材１１を透過して金属膜まで到達することができるので、金属膜２４近傍の物質のラマンスペクトルなどを高精度に測定することができる。

[0059] また、金属膜２４上に溶液Ｌを保持する液体保持部１２を設けるようにしたので、被検体Ｓから放出された物質を溶液Ｌ中に十分に拡散させることができ、金属膜２４に十分な量の物質を付着させることができる。

[0060] また、上記実施形態のラマン散乱光測定装置１においては、透明基板２１を備えた光電場増強基板２０を用いるようにしたので、支持部材１１が不透明な材料から形成されるものであったとしても、光電場増強基板２０の透明基板側の面から励起光Ｌ１を入射し、ラマン散乱光Ｌ２を検出することができる。

[0061] また、上記実施形態においては、光電場増強デバイス１０において、光電場増強基板２０の金属膜２４と支持部材１１との間に空隙ＳＰを設けるようにしたが、図４に示す光電場増強デバイス１５のように、金属膜２４上に支持部材１１を直接設けるようにしてもよい。

[0062] このように金属膜２４上に支持部材１１を直接設けるようにした場合には、被検体Ｓから放出された代謝物が支持部材１１を透過してほぼ真下の金属膜２４に到達するようにできるので、たとえば後述するように励起光を２次元状に走査してラマンスペクトルを測定するような場合には、被検体Ｓから放出された代謝物の２次元的な分布を高精度に測定することができる。

[0063] なお、金属膜２４上に支持部材１１を直接設けるようにした場合、支持部材１１と金属膜２４との密着の程度によっては支持部材１１自身のラマンスペクトルが混在する可能性もあるが、信号処理などによって除去することが

可能である。

[0064] また、図４に示す光電場増強デバイス１５のように金属膜２４の全面に支持部材１１を設けるのではなく、図５に示す光電場増強デバイス１６のように、金属膜２４の一部の面上に支持部材１１を設け、この支持部材１１の上に被検体Ｓを設置するようにしてもよい。

[0065] このように支持部材１１を設けるようにした場合には、支持部材１１が設けられていない金属膜２４近傍に拡散された代謝物などのラマンスペクトルを測定するようにすれば、支持部材１１の材料として必ずしも被検体Ｓから放出された物質を透過する材料を用いなくてもよい。具体的には、たとえばゼラチンからなる板部材などを用いることができる。これにより支持部材１１の材料の選択の自由度を高めることができ、種々の被検体を死滅させることなく保持することができる。

[0066] また、上記実施形態の光電場増強デバイス１０，１５，１６においては、被検体Ｓから放出された物質を透過する材料として多孔質フィルタを用いるようにしたが、多孔質フィルタに限らず、たとえば図６に示すような多数の貫通孔１３ａが設けられた板部材１３を支持部材として用いるようにしてもよい。要するに、支持部材に設置された生体の被検体Ｓが死滅することなく維持できる材料から形成されるとともに、被検体Ｓから放出された物質を透過して光電場増強基板２０の金属膜２４まで到達させるものであれば如何なるものでもよい。

[0067] また、上記実施形態のラマン散乱光測定装置１において、励起光Ｌ１によって被検体Ｓ上を２次元状に走査し、被検体Ｓ上の励起光Ｌ１の各走査点についてラマンスペクトル測定を行うようにしてもよい。

[0068] 具体的には、たとえば、図７に示すように、上記実施形態のラマン散乱光測定装置１において、光電場増強デバイス１０を保持するとともに、図７に示すＸ方向およびＹ方向（紙面厚さ方向）に光電場増強デバイス１０を移動させる移動ステージ１００（走査機構に相当する）を設け、この移動ステージ１００によって光電場増強デバイス１０を移動させることによって、光電

場増強基板２０の金属膜２４近傍を励起光Ｌ１によって２次元状に走査するようにしてもよい。

[0069] なお、励起光Ｌ１を２次元状に走査する走査機構としてはこれに限らず、光電場増強デバイス１０は固定した状態とし、たとえばガルバノミラーなどを用いることによって光電場増強基板２０の金属膜２４近傍を励起光Ｌ１によって２次元状に走査するようにしてもよい。

[0070] また、上記実施形態においては、光電場増強基板２０の透明基板２１における微細凹凸構造２３をベーマイトにより構成するようにしたが、ベーマイト以外の透明な材料により構成されていてもよい。たとえばアルミニウム基体に対して、陽極酸化処理を施してその上層部に多数の微細孔を有する陽極酸化アルミナを作製し、陽極酸化されていないアルミニウム部分を除去した陽極酸化アルミナを微細凹凸構造２３とし、これをガラスなどの透明基板本体２２上に固定して透明基板２１を構成するようにしてもよい。

[0071] また、微細凹凸構造は透明基板本体と異なる材料により構成されたもののみならず、透明基板本体の表面を加工することにより透明基板本体と同一の材料により構成されていてもよい。たとえばガラス基板の表面をリソグラフィーとドライエッチング処理することにより、表面に微細凹凸構造を形成したものを透明基板として用いてもよい。

[0072] 本発明の光測定装置および方法の一実施形態として、上記においてはラマン散乱光測定装置および方法について説明したが、本発明の光測定装置および方法は、プラズモン増強蛍光検出法および蛍光検出装置に適用することもできる。蛍光検出装置において、上述の光電場増強デバイス１０，１５，１６を用い、支持部材１１上に被検体Ｓを載置し、透明基板側から励起光を照射することにより、裏面側から増強された蛍光を検出することができる。

[0073] さらには、ラマン散乱光、蛍光の測定のみならず、励起光Ｌ１の照射を受けた金属膜２４近傍の物質から生じるレーリー散乱光、ミー散乱光、あるいは第２高調波などの光測定装置および方法においても、上述の光電場増強デバイス１０，１５，１６を用いることができ、上記と同様に、支持部材１１

上に被検体Ｓを載置し、透明基板側から励起光を照射することにより、裏面側から増強された光を検出することができる。

請求の範囲

[請求項1] 表面に透明な微細凹凸構造を備えてなる透明基板と、該表面の微細凹凸構造表面に形成された金属膜とを備え、該金属膜が形成された前記微細凹凸構造に照射された光により、前記金属膜の表面に誘起された局在プラズモンの光電場増強効果によって、該表面に増強された光電場を発生する光電場増強デバイスであって、

前記金属膜表面から間隔をあけた位置で被検体を支持する支持部材を備えたことを特徴とする光電場増強デバイス。

[請求項2] 前記支持部材が、前記被検体から放出された物質を透過するものであることを特徴とする請求項１記載の光電場増強デバイス。

[請求項3] 前記金属膜上に液体を保持する液体保持部を備えたことを特徴とする請求項１または２記載の光電場増強デバイス。

[請求項4] 前記支持部材が、生体の前記被検体から放出された代謝物を透過するものであることを特徴とする請求項１から３いずれか１項記載の光電場増強デバイス。

[請求項5] 前記支持部材が、多孔質フィルタで構成されたものであることを特徴とする請求項１から４いずれか１項記載の光電場増強デバイス。

[請求項6] 前記支持部材が、複数の貫通孔が形成されたものであることを特徴とする請求項１から５いずれか１項記載の光電場増強デバイス。

[請求項7] 前記支持部材と前記金属膜との間に空隙が設けられていることを特徴とする請求項１から６いずれか１項記載の光電場増強デバイス。

[請求項8] 前記微細凹凸構造が、ベーマイトからなるものであることを特徴とする請求項１から７いずれか１項記載の光電場増強デバイス。

[請求項9] 前記金属膜が、金または銀からなるものであることを特徴とする請求項１から８いずれか１項記載の光電場増強デバイス。

[請求項10] 請求項１から９いずれか１項記載の光電場増強デバイスと、

該光電場増強デバイスの前記金属膜に対して励起光を照射する励起光照射部と、

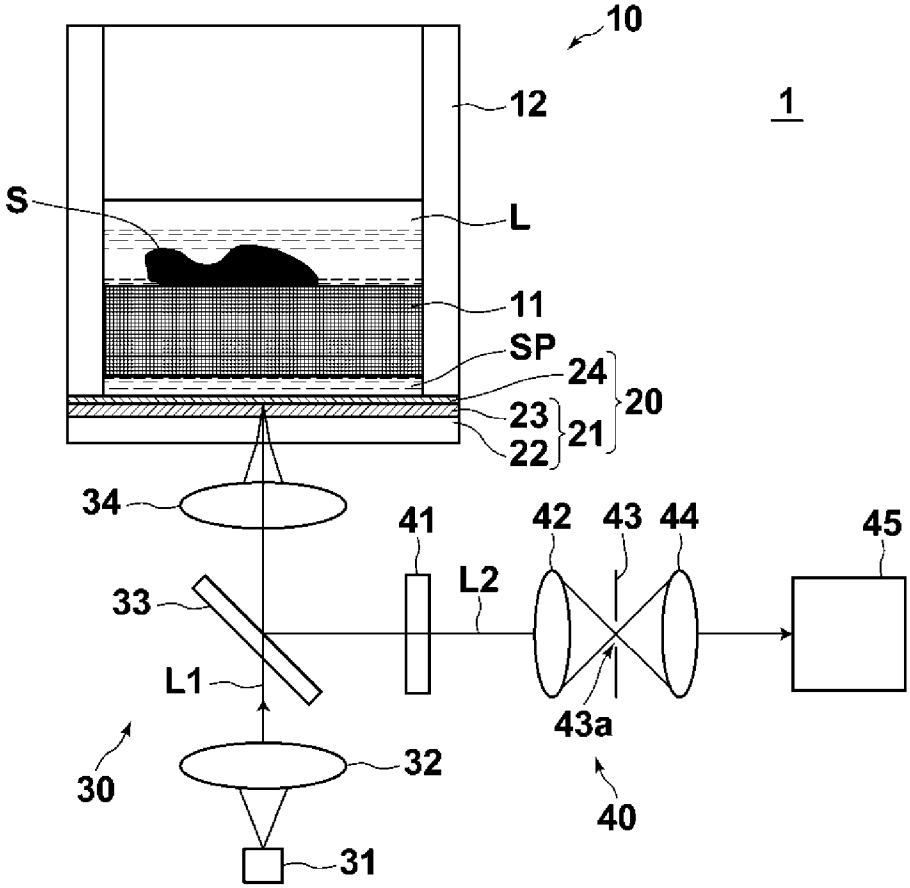
前記光電場増強デバイスへの前記励起光の照射により発生し、前記透明基板側から射出された光を検出する光検出部とを備えたことを特徴とする光測定装置。

［請求項11］ 前記励起光によって前記光電場増強デバイスの金属膜上を２次元状に走査させる走査機構を備えたことを特徴とする請求項１０記載の光測定装置。

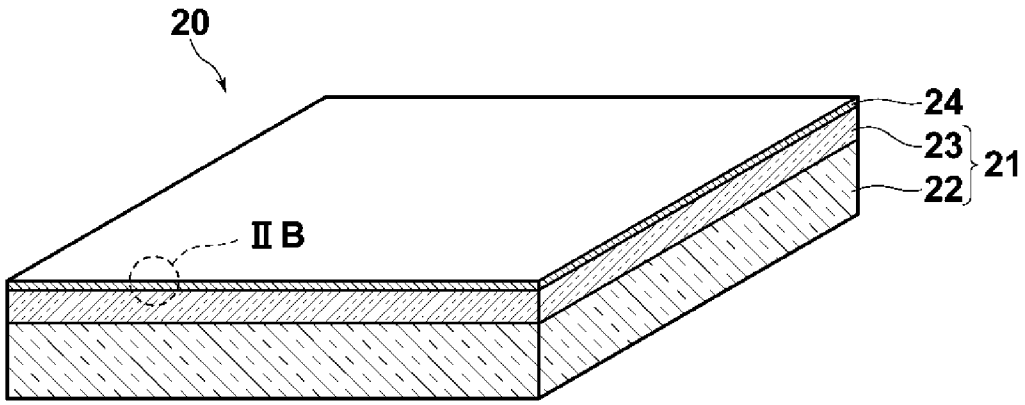
［請求項12］ 請求項１から９いずれか１項記載の光電場増強デバイスの前記金属膜に対して励起光を照射し、

前記光電場増強デバイスへの前記励起光の照射により発生し、前記透明基板側から射出された光を検出することを特徴とする光測定方法。

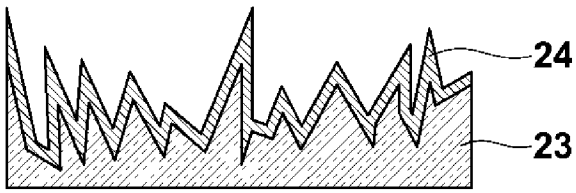
[図1]


10
12
1
S
L
11
SP
24
20
23
21
22
34
41
42
43
44
45
33
L2
L1
43a
30
32
40
31

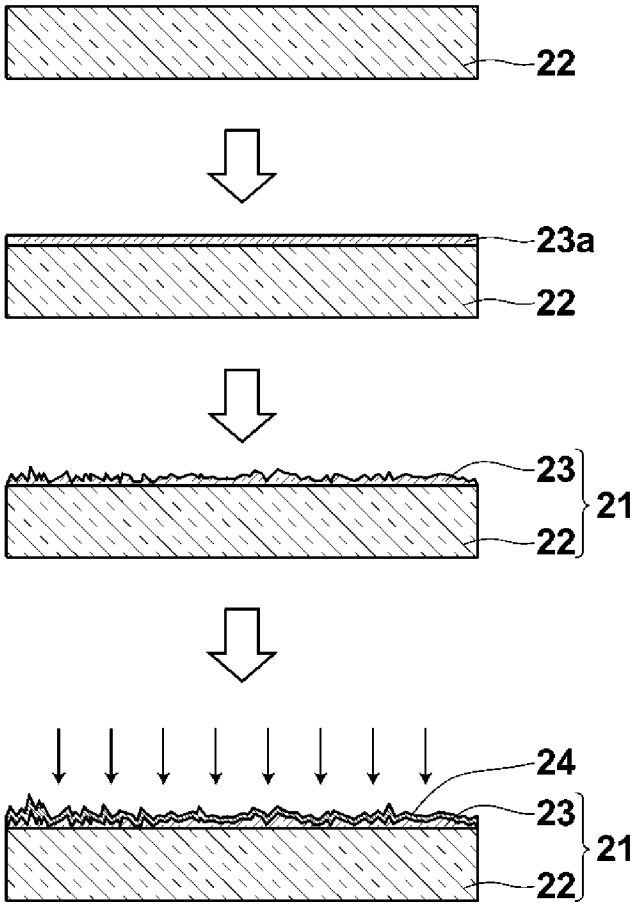
[図2A]


20
24
23
21
22
ⅡB

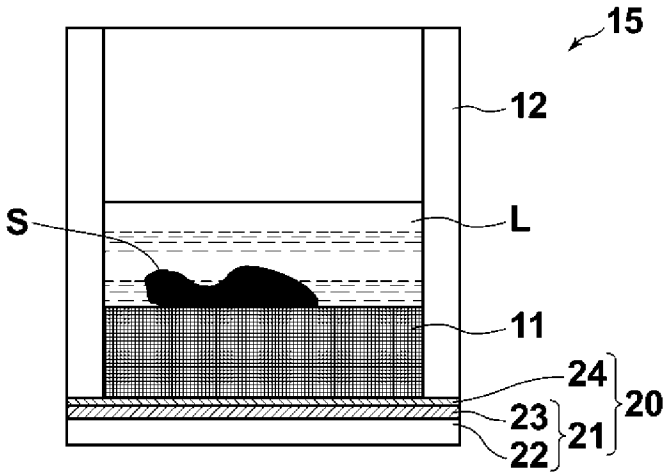
[図2B]


24
23

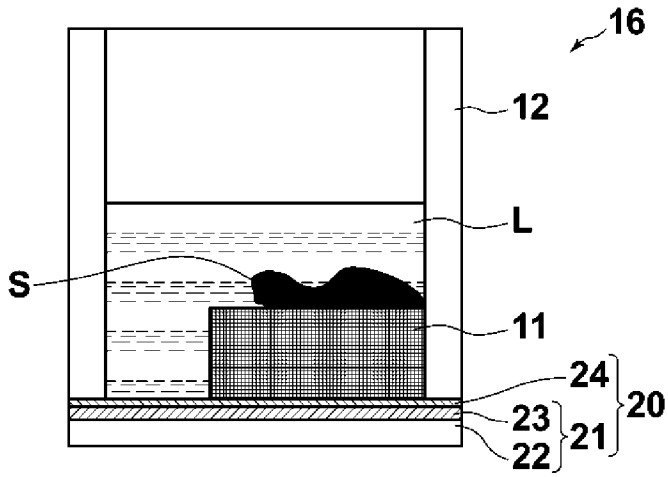
[図3]



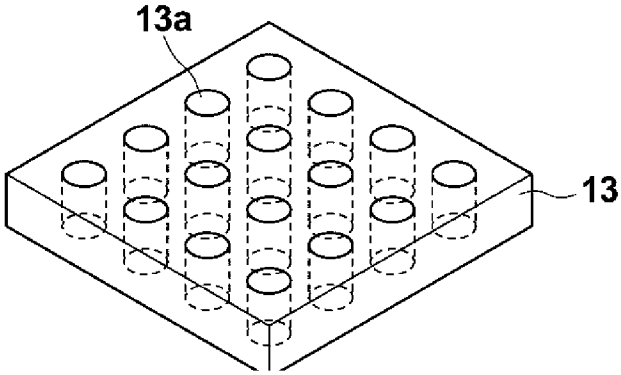
[図4]



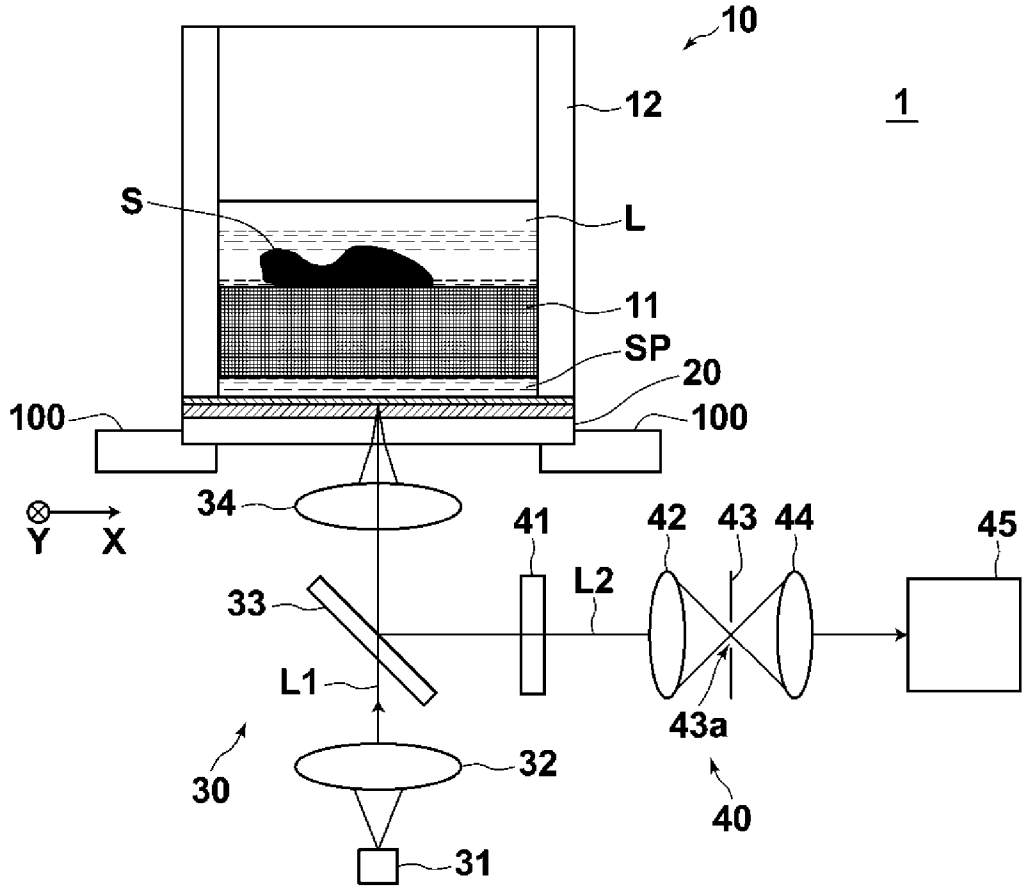
[図5]


16
12
L
S
11
24
20
23
21
22

[図6]


13a
13

[図7]


10
1
12
S
L
11
SP
20
100
100
34
Y
X
41
42
43
44
45
33
L2
L1
43a
30
32
40
31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2013/004717

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
G01N21/65(2006.01)i, *G01N21/01*(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
G01N21/01-21/65, G01N21/01

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	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 5-52740 A (Hitachi, Ltd.), 02 March 1993 (02.03.1993), paragraphs [0013] to [0014]; fig. 4 (Family: none)	1-12
Y	JP 2011-180043 A (Fujitsu Ltd.), 15 September 2011 (15.09.2011), paragraphs [0010], [0020] to [0021]; fig. 6 (Family: none)	1-12
Y	JP 2012-63293 A (Fujifilm Corp.), 29 March 2012 (29.03.2012), paragraphs [0030] to [0039], [0048] to [0066]; fig. 1, 6, 7 & US 2013/0182343 A1 & EP 2618133 A1 & WO 2012/035716 A1 & CN 103109179 A	1-12

☒ 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	Date of mailing of the international search report
05 December, 2013 (05.12.13)	24 December, 2013 (24.12.13)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2013/004717

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 2010-509601 A (Fraunhofer-Gesellschaft zur Forderung der Angewandten Forschung e.V.), 25 March 2010 (25.03.2010), paragraphs [0042], [0063] to [0064], [0087]; fig. 1 & US 2010/0315628 A1 & EP 2089509 A & WO 2008/058683 A2 & DE 102006053540 B3 & KR 10-2009-0085095 A & CA 2669382 A	2,4-6
A	JP 2009-531696 A (E2V Biosensors Ltd.), 03 September 2009 (03.09.2009), paragraphs [0064] to [0065] & US 2010/0240144 A1 & GB 2436719 A & EP 2002242 A & WO 2007/110614 A2 & CN 101460830 A & AU 2007231216 A	1-12

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１３／００４７１７

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N21/65(2006.01)i, G01N21/01(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　G01N21/01-21/65, G01N21/01

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	１９７１－２０１３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１３年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	JP 5-52740 A（株式会社日立製作所）1993.03.02, 【００１３】－【００１４】、図４（ファミリーなし）	1-12
Y	JP 2011-180043 A（富士通株式会社）2011.09.15, 【００１０】、【００２０】－【００２１】、図６（ファミリーなし）	1-12

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

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

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
０５．１２．２０１３	２４．１２．２０１３

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）　２Ｗ　９５０８
波多江　進
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３２９２

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	JP 2012-63293 A (富士フイルム株式会社) 2012.03.29, 【００３０】－【００３９】、【００４８】－【００６６】、図１、図６、図７ & US 2013/0182343 A1 & EP 2618133 A1 & WO 2012/035716 A1 & CN 103109179 A	1-12
Y	JP 2010-509601 A (フラウンホーファーゲゼルシャフト　ツル　フェルデルンング　デル　アンゲヴァンテン　フォルシュング　エーファウ) 2010.03.25, 【００４２】、【００６３】－【００６４】、【００８７】、図１ & US 2010/0315628 A1 & EP 2089509 A & WO 2008/058683 A2 & DE 102006053540 B3 & KR 10-2009-0085095 A & CA 2669382 A	2,4-6
A	JP 2009-531696 A (イーツーブイ　バイオセンサーズ　リミテッド) 2009.09.03, 【００６４】－【００６５】 & US 2010/0240144 A1 & GB 2436719 A & EP 2002242 A & WO 2007/110614 A2 & CN 101460830 A & AU 2007231216 A	1-12