

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5704163号
(P5704163)

(45) 発行日 平成27年4月22日 (2015. 4. 22)

(24) 登録日 平成27年3月6日 (2015. 3. 6)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 21/27 (2006. 01)	GO 1 N 21/27 B
GO 1 N 33/483 (2006. 01)	GO 1 N 33/483 C

請求項の数 4 (全 23 頁)

(21) 出願番号	特願2012-504370 (P2012-504370)	(73) 特許権者	000001270
(86) (22) 出願日	平成23年2月10日 (2011. 2. 10)		コニカミノルタ株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2011/052838		東京都千代田区丸の内二丁目7番2号
(87) 国際公開番号	W02011/111466	(74) 代理人	110001254
(87) 国際公開日	平成23年9月15日 (2011. 9. 15)		特許業務法人光陽国際特許事務所
審査請求日	平成25年9月13日 (2013. 9. 13)	(72) 発明者	柏崎 治
(31) 優先権主張番号	特願2010-55328 (P2010-55328)		日本国東京都八王子市石川町2970番地
(32) 優先日	平成22年3月12日 (2010. 3. 12)		コニカミノルタアドバンストレイヤー株式
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		会社内
(31) 優先権主張番号	特願2010-55325 (P2010-55325)	(72) 発明者	新 勇一
(32) 優先日	平成22年3月12日 (2010. 3. 12)		日本国東京都八王子市石川町2970番地
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		コニカミノルタアドバンストレイヤー株式
			会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分子間相互作用の検出方法およびその検出装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

リガンドを有する検出器に対し白色光を照射した時の前記検出器からの反射光の反射率を一定の波長間隔で算出して反射スペクトルを求める工程と、

前記反射スペクトルを高次関数に近似する工程と、

前記高次関数から最小の反射率を含む波長区間を選択する工程と、

前記波長区間で前記高次関数をそれより低次の2次関数に近似する工程と、

前記2次関数を波長で微分してその値が0となる解を求める工程と、

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出方法。

【請求項 2】

リガンドを有する検出器に対し白色光を照射した時の前記検出器からの反射光の反射率を一定の波長間隔で算出して反射スペクトルを求める工程と、

前記反射スペクトルをフィルタリングする工程と、

フィルタリング後の前記反射スペクトルから最小の反射率を含みかつ変曲点を境界とする第1の波長区間を選択する工程と、

前記第1の波長区間でフィルタリング後の前記反射スペクトルを高次関数に近似する工程と、

前記高次関数から最小の反射率を含む第2の波長区間を選択する工程と、

前記第2の波長区間で前記高次関数をそれより低次の2次関数に近似する工程と、

前記2次関数を波長で微分してその値が0となる解を求める工程と、

10

20

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出方法。

【請求項 3】

リガンドを有する検出器と、

前記検出器に対し白色光を照射する白色光源と、

前記検出器からの反射光を検出する分光器と、

前記白色光源と前記分光器とを制御する制御装置であって、一定の波長間隔で反射率を算出して反射スペクトルを求め、前記反射スペクトルを高次関数に近似し、前記高次関数から最小の反射率を含む波長区間を選択し、前記波長区間で前記高次関数をそれより低次の 2 次関数に近似し、前記 2 次関数を波長で微分してその値が 0 となる解を求める前記制御装置と、

10

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出装置。

【請求項 4】

リガンドを有する検出器と、

前記検出器に対し白色光を照射する白色光源と、

前記検出器からの反射光を検出する分光器と、

前記白色光源と前記分光器とを制御する制御装置であって、一定の波長間隔で反射率を算出して反射スペクトルを求め、前記反射スペクトルをフィルタリングし、フィルタリング後の前記反射スペクトルから最小の反射率を含みかつ変曲点を境界とする第 1 の波長区間を選択し、前記第 1 の波長区間でフィルタリング後の前記反射スペクトルを高次関数に近似し、前記高次関数から最小の反射率を含む第 2 の波長区間を選択し、前記第 2 の波長区間で前記高次関数をそれより低次の 2 次関数に近似し、前記 2 次関数を波長で微分してその値が 0 となる解を求める前記制御装置と、

20

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は分子間相互作用の検出方法およびその検出装置に関し、特に生体分子や有機高分子などの分子間相互作用を検出するための検出方法およびその検出装置に関する。

【背景技術】

【0002】

30

従来、抗原抗体反応などの生体分子同士の分子間相互作用や、有機高分子同士の分子間相互作用などの結合の測定は、一般的に、放射性物質や蛍光体などの標識を用いることで行われてきた。この標識には手間がかかり、特にタンパク質への標識は方法が煩雑な場合や標識によりタンパク質の性質が変化する場合があった。近年では、生体分子や有機高分子間の結合を、簡便に標識を用いることなく直接的に検出する手段として、光学薄膜の干渉色変化を利用した R I f S 方式 (Reflectometric interference spectroscopy: 反射型干渉分光法) が知られている。その基本原理は特許文献 1 や非特許文献 1 などに言及されている。

【0003】

R I f S 方式について簡単に説明すると、この方式では、図 6 に示す検出器 100 が用いられる。図 6 (a) に示すとおり、検出器 100 は基板 102 を有しており、基板 102 上に光学薄膜 104 が設けられている。この状態の検出器 100 に対し白色光を照射した場合、図 9 に示すとおり、白色光そのものの分光強度は実線 106 で表され、その反射光の分光強度は実線 108 で表される。照射した白色光とその反射光との各分光強度から反射率を求めると、図 10 に示すとおり、実線で表された反射スペクトル 110 が得られる。

40

【0004】

分子間相互作用を検出するにあたっては、図 6 (b) に示すとおり、光学薄膜 104 上にリガンド 120 が設けられる。光学薄膜 104 上にリガンド 120 を設けると、光学的厚さ 112 が変化して光路長が変化し、干渉波長も変化する。すなわち、反射光の分光強

50

度分布のピーク位置がシフトし、その結果図10に示すとおり、反射スペクトル110が反射スペクトル122（点線部参照）にシフトする。この状態において、検出器100上にサンプル溶液を流し込むと、図6（c）に示すとおり、検出器100のリガンド120とサンプル溶液中のアナライト130とが結合する。リガンド120とアナライト130とが結合すると、光学的厚さ112がさらに変化し、図10に示すとおり、反射スペクトル122が反射スペクトル132（1点鎖線部参照）にシフトする。そして、反射スペクトル122のピーク波長（ボトムピーク波長）と反射スペクトル132のボトムピーク波長との変化量を検出することにより、分子間相互作用を検出することができるようになっている。

【0005】

10

ボトムピーク波長の変化の推移を経時的に観測すると、図11に示すとおり、時点140において、リガンド120によるボトムピーク波長の変化を確認することができ、時点142において、リガンド120とアナライト130との結合によるボトムピーク波長の変化を確認することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特許第3786073号公報

【非特許文献】

【0007】

20

【非特許文献1】Sandstrom et al, APPL.OPT., 24, 472, 1985

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

ところで、ボトムピーク波長の変化の推移を観測する上記R I f S方式においては、実際に検出した反射光の波長間に真の反射率ボトムピーク波長が存在することが多いため、実際に検出した反射光の波長間隔よりも小さい（狭い）波長間隔でボトムピーク波長の推移を追跡する必要がある。これに対しては、通常、反射率の波長分布を高次多項式により近似し、その高次多項式からその解（最小値）を求めてこれをボトムピーク波長とすることが行われている。

30

【0009】

しかしながら、高次多項式による近似はフィッティングという観点では有用であるものの、高次ゆえにその多項式から解を求めるには時間がかかり、ボトムピーク波長を容易かつ短時間で算出・特定することが困難である。

【0010】

また、ボトムピーク波長の変化の推移を観測する上記R I f S方式においては、複数種類の分子を取り扱うことも可能となっており、複数種類の分子を積み重ねたり、サンプル溶液中に複数種類のアナライト130を混入させたりしても、分子間相互作用を検出することができる。例えば、図12に示すとおり、複雑な抗原・抗体反応といったタンパク質の分子間相互作用を検出することができる。図12の例によれば、光学薄膜104の表面をアミノ化し（（a）参照）、NHS-PEG4を介してビオチン150を結合させ（（b）参照）、アビジン152を結合させ（（c）参照）、B S A 1 5 4でブロッキングして抗体156を結合させ（（d）参照）、抗原158を検出する（（e）参照）。ボトムピーク波長の変化の推移を経時的に観測すると、図13に示すとおり、区間160でビオチン150、アビジン152の結合を、区間162においてB S A 1 5 4のブロッキングを、区間164において抗体156の結合を、区間166で濃度に応じた抗原158の結合を、それぞれ検出することができる。

40

【0011】

実際に複数種類の分子の相互作用を検出しようとする場合において、ボトムピーク波長を算出・特定するときには、例えば、図14（a）、（b）に示すような反射スペクトル

50

170を得てこれを高次関数で近似し、ボトムピーク波長を算出・特定する。

【0012】

しかしながら、この場合に、複数種類の分子を扱うがゆえに、反射スペクトル170には極小点172が存在し、反射スペクトル170を近似すると、極小点172の影響を受けた反射スペクトル174が得られ、それに伴いボトムピーク波長がずれる。そのため、反射スペクトル170における正確なボトムピーク波長を算出・特定できないことがある。

【0013】

したがって、本発明の主な目的は、反射スペクトルの極小点の有無に関らず、ボトムピーク波長を容易かつ短時間で算出・特定することができる分子間相互作用の検出方法およびその検出装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0014】

本発明の一態様によれば、

リガンドを有する検出器に対し白色光を照射した時の前記検出器からの反射光の反射率を一定の波長間隔で算出して反射スペクトルを求める工程と、

前記反射スペクトルを高次関数に近似する工程と、

前記高次関数から最小の反射率を含む波長区間を選択する工程と、

前記波長区間で前記高次関数をそれより低次の2次関数に近似する工程と、

前記2次関数を波長で微分してその値が0となる解を求める工程と、

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出方法が提供される。

【0015】

本発明の他の態様によれば、

リガンドを有する検出器に対し白色光を照射した時の前記検出器からの反射光の反射率を一定の波長間隔で算出して反射スペクトルを求める工程と、

前記反射スペクトルをフィルタリングする工程と、

フィルタリング後の前記反射スペクトルから最小の反射率を含みかつ変曲点を境界とする第1の波長区間を選択する工程と、

前記第1の波長区間でフィルタリング後の前記反射スペクトルを高次関数に近似する工程と、

前記高次関数から最小の反射率を含む第2の波長区間を選択する工程と、

前記第2の波長区間で前記高次関数をそれより低次の2次関数に近似する工程と、

前記2次関数を波長で微分してその値が0となる解を求める工程と、

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出方法が提供される。

【0016】

本発明の他の態様によれば、

リガンドを有する検出器と、

前記検出器に対し白色光を照射する白色光源と、

前記検出器からの反射光を検出する分光器と、

前記白色光源と前記分光器とを制御する制御装置であって、一定の波長間隔で反射率を算出して反射スペクトルを求め、前記反射スペクトルを高次関数に近似し、前記高次関数から最小の反射率を含む波長区間を選択し、前記波長区間で前記高次関数をそれより低次の2次関数に近似し、前記2次関数を波長で微分してその値が0となる解を求める前記制御装置と、

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出装置が提供される。

【0017】

本発明の他の態様によれば、

リガンドを有する検出器と、

前記検出器に対し白色光を照射する白色光源と、

前記検出器からの反射光を検出する分光器と、

前記白色光源と前記分光器とを制御する制御装置であって、一定の波長間隔で反射率を算出して反射スペクトルを求め、前記反射スペクトルをフィルタリングし、フィルタリング後の前記反射スペクトルから最小の反射率を含みかつ変曲点を境界とする第1の波長区間を選択し、前記第1の波長区間でフィルタリング後の前記反射スペクトルを高次関数に近似し、前記高次関数から最小の反射率を含む第2の波長区間を選択し、前記第2の波長区間で前記高次関数をそれより低次の2次関数に近似し、前記2次関数を波長で微分してその値が0となる解を求める前記制御装置と、

を備えることを特徴とする分子間相互作用の検出装置が提供される。

【発明の効果】

【0018】

10

本発明によれば、反射率の波長分布（反射スペクトル）を高次関数で近似した後に、波長区間を選択してその波長区間で反射スペクトルを2次関数で再度近似するから、その2次関数を微分してその値が0となる解を求めるといった簡単な処理でボトムピーク波長が求められ、反射スペクトルの極小点の有無に関らず、ボトムピーク波長を容易かつ短時間で算出・特定することができる。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】分子間相互作用の検出装置の概略構成を示す図面である。

【図2】検出器の概略構成を示す図面である。

【図3】リガンドとアナライトとの結合の様子を模式的に表した図面である。

20

【図4】分子間相互作用の検出方法の処理工程を概略的に示すフローチャートである。

【図5】図4の処理工程における波形処理を概略的に説明するための図面である。

【図6】R I f S方式の概略を説明するための図面である。

【図7】分子間相互作用の検出方法の処理工程を概略的に示すフローチャートである。

【図8】図7の処理工程における波形処理を概略的に説明するための図面である。

【図9】波長と分光強度との概略的な関係を示すスペクトル例である。

【図10】波長と反射率との概略的な関係を示すスペクトル例である。

【図11】ボトムピーク波長の変化の概略的な推移を示すグラフである。

【図12】抗原・抗体反応の一例を説明するための図面である。

【図13】図12の例におけるボトムピーク波長の変化の概略的な推移を示すグラフである。

30

【図14】反射スペクトルからボトムピーク波長を算出・特定する際の問題点を説明するための図面である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

（第1の実施形態）

以下、図面を参照しながら本発明の好ましい第1の実施形態について説明する。

【0021】

図1に示すとおり、検出装置1は主に、検出器10、白色光源20、分光器30、光ファイバ40、制御装置50などから構成されている。

40

【0022】

検出器10は基本的にはセンサーチップ12、フローセル14から構成されている。

【0023】

図2に示すとおり、センサーチップ12は矩形状を呈したシリコン基板12aを有している。シリコン基板12a上にはSiN膜12b（窒化シリコン）が蒸着されている。SiN膜12bは光学薄膜の一例である。

【0024】

フローセル14はシリコーンゴム製の透明な部材である。フローセル14には溝14aが形成されている。フローセル14をセンサーチップ12に密着させると、密閉流路14bが形成される（図1参照）。溝14aの両端部はフローセル14の表面から露出してお

50

り、一方の端部がサンプル溶液の流入口14cとして、他方の端部がその流出口14dとしてそれぞれ機能するようになっている。溝14の底部にはリガンド16が結合されている(図1参照)。

【0025】

検出器10では、センサーチップ12に対しフローセル14を貼り替え可能となっており、フローセル14はディスプレイザブル(使い捨て)使用が可能となっている。センサーチップ12の表面には、シランカップリング剤などにより、表面修飾をおこなってもよく、この場合フローセル14の貼り替えが容易となる。

【0026】

図1に示すとおり、フローセル14の密閉流路14bの上方には光ファイバ40が設置されている。光ファイバ40の一方の端部には白色光源20が接続されている。白色光源20としては例えばハロゲン光源が使用される。光ファイバ40の他方の端部には分光器30が接続されている。白色光源20が点灯すると、その光が光ファイバ40を介して密閉流路14bに照射され、その反射光が再度光ファイバ40を介して分光器30で検出される。白色光源20や分光器30は制御装置50に接続され、制御装置50はこれら部材の動作を制御するようになっている。特に検出装置1では、制御装置50により、分光器30による検出結果からその分光特性や反射特性などを解析可能となっている。

【0027】

続いて、検出装置1を用いた分子間相互作用の検出方法について説明する。

【0028】

図1に示すとおり、アナライト62を含むサンプル溶液60を、流入口14cから密閉流路14bを経て流出口14dに流通させる。アナライト62とは、リガンド16と特異的に結合する物質であり、検出しようとする目的の分子である。アナライト62としては、例えばタンパク質、核酸、脂質、糖などの生体分子や、薬剤物質、内分泌錯乱化学物質などの生体分子と結合する外来物質などが使用される。

【0029】

サンプル溶液60が密閉流路14bを流通している間に、白色光源20を点灯させる。白色光はフローセル14を透過してセンサーチップ12に照射され、その反射光が分光器30で検出される。分光器30により検出された反射光の検出強度は制御装置50に送信される。

【0030】

この場合に、図3に示すとおり、サンプル溶液60中のアナライト62がリガンド16と結合すると、光学的厚さ70が変化し、干渉色(分光器30による検出強度が最も小さくなる波長)が変化する。制御装置50は、分光器30による検出結果を受けてアナライト62とリガンド16との結合前後での反射スペクトルの各ボトムピーク波長 λ_{bottom} を算出・特定する。

【0031】

ボトムピーク波長 λ_{bottom} の算出・特定方法は、主には、図4の(S1)～(S4)の工程から構成され、(S1)～(S4)の工程の処理は、制御装置50において実行される。

(S1) 反射スペクトルを求め高次関数に近似する。

(S2) 高次関数から任意の波長区間を選択する。

(S3) 選択した波長区間で高次関数をそれより低次の2次関数に近似する。

(S4) 2次関数からボトムピーク波長 λ_{bottom} を求める。

【0032】

なお、ボトムピーク波長 λ_{bottom} の算出・特定方法はアナライト62とリガンド16との結合前後で同様である。

【0033】

S1の工程では、分光器30の検出結果から、波長に対する反射率を一定の波長間隔(例えば0.35nm間隔)で算出し、図5(a)に示すとおり、測定波長範囲(例えば4

10

20

30

40

50

00～800nm)における波長と反射率との関係(反射スペクトル72)を求める。この段階では、反射スペクトル72の波形は微小な凹凸が繰り返されるような不規則な形状を呈しており、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を算出・特定するのが困難な状態となっている。

【0034】

その後、反射スペクトル72を20次程度の高次関数で近似し、図5(b)に示すとおり、反射スペクトル72の波形を滑らかにする。当該近似は公知のいずれの手法によるものであってもよく、例えば線形の関数と擬似voigt関数の和で実現することができる。

【0035】

S2の工程では、図5(b)に示すとおり、近似後の反射スペクトル72(高次関数)において、反射率の最小値をとる波長を「基準波長 λ_0 」として任意に波長区間74を選択・決定する。

【0036】

すなわち、S1の工程では、高次関数においても測定波長に対応する反射率が算出されているから、それら反射率のなかから、最小値をとる波長を特定してこれを基準波長 λ_0 とする(図5(c)参照)。その後、基準波長 λ_0 を中心としてその前後で数点の波長を選択し、その選択した区間を波長区間74とする。波長区間74の選択は任意であり、少なくとも基準波長 λ_0 を含んだ3点を選択すればよい。

【0037】

S3の工程では、波長区間74において近似後の反射スペクトル72(高次関数)を2次関数で近似する。当該近似は公知のいずれの手法によるものであってもよく、例えば最小二乗法で実現することができる。

【0038】

この場合、波長区間74における波長の反射率は、波長を x 、反射率を y として、式(1)で表される。

【0039】

$$y = ax^2 + bx + c \quad \cdots (1)$$

式(1)中、 a 、 b 、 c は任意の定数である。

【0040】

S4の工程では、式(1)の2次関数から、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を求める。式(1)の2次関数は、下に凸の放物線を描くものであり、ある波長における傾きが0(ゼロ)であれば、その波長が最小の反射率をとりうる波長であってボトムピーク波長 λ_{bottom} に相当する。したがって、S4の工程では、式(1)の2次関数を波長(x)で微分し、その微分後の値を0とする方程式を導き出し、その解を求める。微分後の値を0とする方程式は式(2)で表され、その解は式(3)で表される。

【0041】

$$2ax + b = 0 \quad \cdots (2)$$

$$x = -b/2a \quad \cdots (3)$$

このような処理から、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を「 $-b/2a$ 」と算出・特定することができる。

【0042】

以上の第1の実施形態によれば、S1の工程において分光器30の検出結果から反射スペクトル72を高次関数で近似した後に、S2、S3の工程において波長区間74を決定し反射スペクトル72を2次関数で再度近似するから、S4の工程においてはその2次関数を微分してその値が0となる解を求めるといった簡単な処理を実行することにより、ボトムピーク波長 λ_{bottom} が算出・特定され、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を容易かつ短時間で算出・特定することができる。

(第2の実施形態)

以下、図面を参照しながら本発明の好ましい第2の実施形態について説明する。

10

20

30

40

50

【0043】

第2の実施形態における検出装置の構成は第1の実施形態の検出装置1と同じである。

【0044】

第2の実施形態が第1の実施形態と異なるのは、ボトムピーク波長 λ_{bottom} の算出・特定方法である。以下、第2の実施形態におけるボトムピーク波長 λ_{bottom} の算出・特定方法について説明する。

【0045】

ボトムピーク波長 λ_{bottom} の算出・特定方法は、主には、図7の(S11)～(S16)の工程から構成され、(S11)～(S16)の工程の処理は、制御装置50において実行される。

(S11) 反射スペクトルを求めフィルタリングする。

(S12) フィルタリング後の反射スペクトルから任意の波長区間を選択する。

(S13) 選択した波長区間でフィルタリング後の反射スペクトルを高次関数に近似する。

(S14) 高次関数から任意の波長区間を選択する。

(S15) 選択した波長区間で高次関数をそれより低次の2次関数に近似する。

(S16) 2次関数からボトムピーク波長 λ_{bottom} を求める。

【0046】

なお、ボトムピーク波長 λ_{bottom} の算出・特定方法はアナライタ62とリガンド16との結合前後で同様である。

【0047】

S11の工程では、分光器30の検出結果から、波長に対する反射率を一定の波長間隔（例えば0.35nm間隔）で算出し、図8(a)に示すとおり、測定波長範囲（例えば400～800nm）における波長と反射率との関係（反射スペクトル72）を求める。この段階では、反射スペクトル72の波形は微小な凹凸が繰り返されるような不規則な形状を呈しており、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を算出・特定するのが困難な状態となっている。

【0048】

その後、反射スペクトル72をフィルタリング（平滑化処理）し、図8(b)に示すとおり、反射スペクトル72の波形を滑らかにする。当該フィルタリングでは、一定の波長間隔で各波長における反射率を平均化する。

【0049】

S12の工程では、図8(b)に示すとおり、フィルタリング後の反射スペクトル72において、反射率の最小値をとる波長を「基準波長 λ_0 」として任意に波長区間76を選択・決定する。

【0050】

すなわち、S11の工程では、一定の波長間隔で平均化された反射率が算出されているから、それら反射率のなかから、最小値をとる波長を特定してこれを基準波長 λ_0 とする。その後、基準波長 λ_0 を中心としてその前後で波長を選択し、その選択した区間を波長区間76とする。基準波長 λ_0 の短波長側や長波長側に変曲点78が存在する場合には、変曲点78を波長区間76の境界とする。変曲点78より数点（2～3点）分の波長だけ基準波長 λ_0 側に寄せた地点を、波長区間76の境界としてもよい。

【0051】

S13の工程では、波長区間76においてフィルタリング後の反射スペクトル72を20次程度の高次関数で近似し、図8(c)に示すとおり、反射スペクトル72の波形をさらに滑らかにする。当該近似は公知のいずれの手法によるものであってもよく、例えば線形の関数と擬似voigt関数の和で実現することができる。

【0052】

S14の工程では、図8(c)、図8(d)に示すとおり、近似後の反射スペクトル72（高次関数）において、反射率の最小値をとる波長を「基準波長 λ_1 」として任意に波

10

20

30

40

50

長区間 7 4 を選択・決定する。

【0053】

すなわち、S 1 3 の工程では、高次関数においても測定波長に対応する反射率が算出されているから、それら反射率のなかから、最小値をとる波長を特定してこれを基準波長 λ_1 とする（図 8（d）参照）。その後、基準波長 λ_1 を中心としてその前後で数点の波長を選択し、その選択した区間を波長区間 7 4 とする。波長区間 7 4 の選択は任意であり、少なくとも基準波長 λ_1 を含んだ 3 点を選択すればよい。

【0054】

S 1 5 の工程では、波長区間 7 4 において近似後の反射スペクトル 7 2（高次関数）を 2 次関数で近似する。当該近似は公知のいずれの手法によるものであってもよく、例えば最小二乗法で実現することができる。

10

【0055】

この場合、波長区間 7 4 における波長の反射率は、波長を x ，反射率を y として、前述の式（1）で表される。

【0056】

S 1 6 の工程では、式（1）の 2 次関数から、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を求める。式（1）の 2 次関数は、下に凸の放物線を描くものであり、ある波長における傾きが 0（ゼロ）であれば、その波長が最小の反射率をとりうる波長であってボトムピーク波長 λ_{bottom} に相当する。したがって、S 1 6 の工程では、式（1）の 2 次関数を波長（ x ）で微分し、その微分後の値を 0 とする方程式を導き出し、その解を求める。微分後の値を 0 とする方程式は前述の式（2）で表され、その解は前述の式（3）で表される。

20

【0057】

このような処理から、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を「 $-b/2a$ 」と算出・特定することができる。

【0058】

以上の第 2 の実施形態によれば、S 1 1 の工程において分光器 3 0 の検出結果から反射スペクトル 7 2 を求めてフィルタリングした後に、S 1 2 の工程において変曲点 7 8 を境界とする波長区間 7 6 を選択・決定するから、反射スペクトル 7 2 に極小点が複数存在する場合であっても、その極小点を回避した範囲（除く範囲）でボトムピーク波長 λ_{bottom} を求められ、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を正確に算出・特定することができる。

30

【0059】

さらに、第 2 の実施形態によれば、S 1 3 の工程においてフィルタリング後の反射スペクトル 7 2 を高次関数で近似した後に、S 1 4，S 1 5 の工程において波長区間 7 4 を決定し反射スペクトル 7 2 を 2 次関数で再度近似するから、S 1 6 の工程においてはその 2 次関数を微分してその値が 0 となる解を求めるといった簡単な処理を実行することにより、ボトムピーク波長 λ_{bottom} が算出・特定され、ボトムピーク波長 λ_{bottom} を容易かつ短時間で算出・特定することができる。

【符号の説明】

【0060】

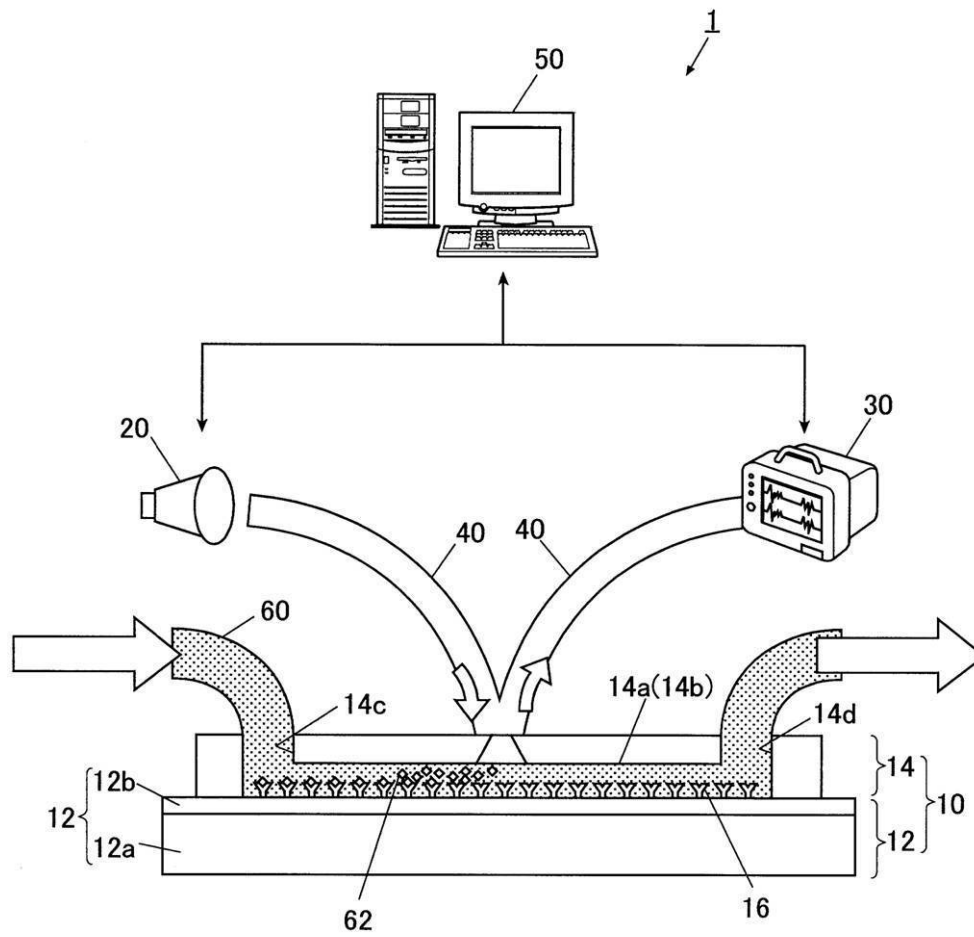
40

- 1 検出装置
- 10 検出器
- 12 センサーチップ
- 12a シリコン基板
- 12b SiN 膜
- 14 フローセル
- 14a 溝
- 14b 密閉流路
- 14c 流入口
- 14d 流出口

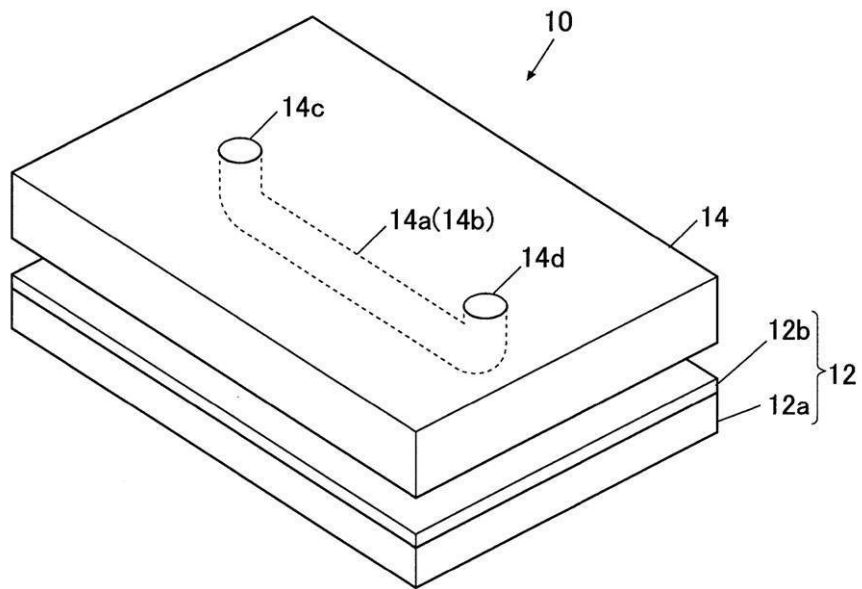
50

1 6	リガンド	
2 0	白色光源	
3 0	分光器	
4 0	光ファイバ	
5 0	制御装置	
6 0	サンプル溶液	
6 2	アナライト	
7 0	光学的厚さ	
7 2	反射スペクトル	
7 4	波長区間	10
1 0 0	検出器	
1 0 2	基板	
1 0 4	光学薄膜	
1 0 6, 1 0 8	実線	
1 1 0	反射スペクトル	
1 1 2	光学的厚さ	
1 2 0	リガンド	
1 2 2	反射スペクトル	
1 3 0	アナライト	
1 3 2	反射スペクトル	20
1 4 0, 1 4 2	時点	
1 5 0	ビオチン	
1 5 2	アビジン	
1 5 4	B S A	
1 5 6	抗体	
1 5 8	抗原	
1 6 0, 1 6 2, 1 6 4, 1 6 6	区間	
1 7 0	反射スペクトル	
1 7 2	極小点	
1 7 4	反射スペクトル	30

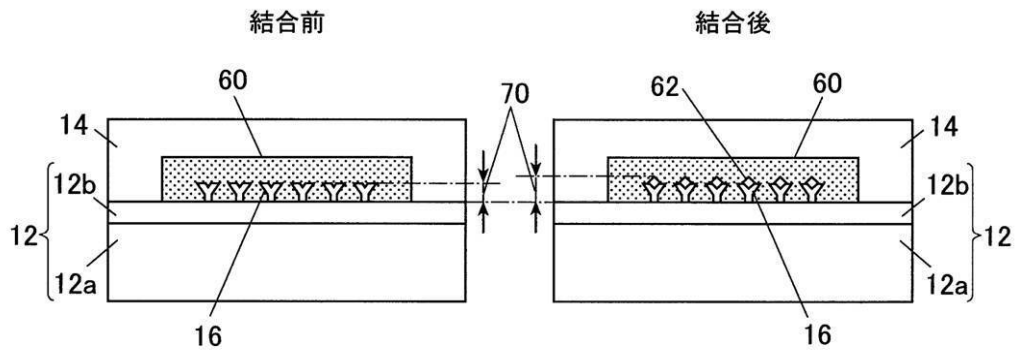
【図 1】



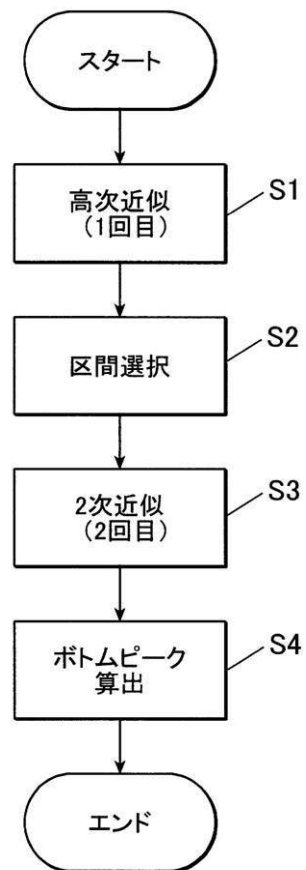
【図 2】



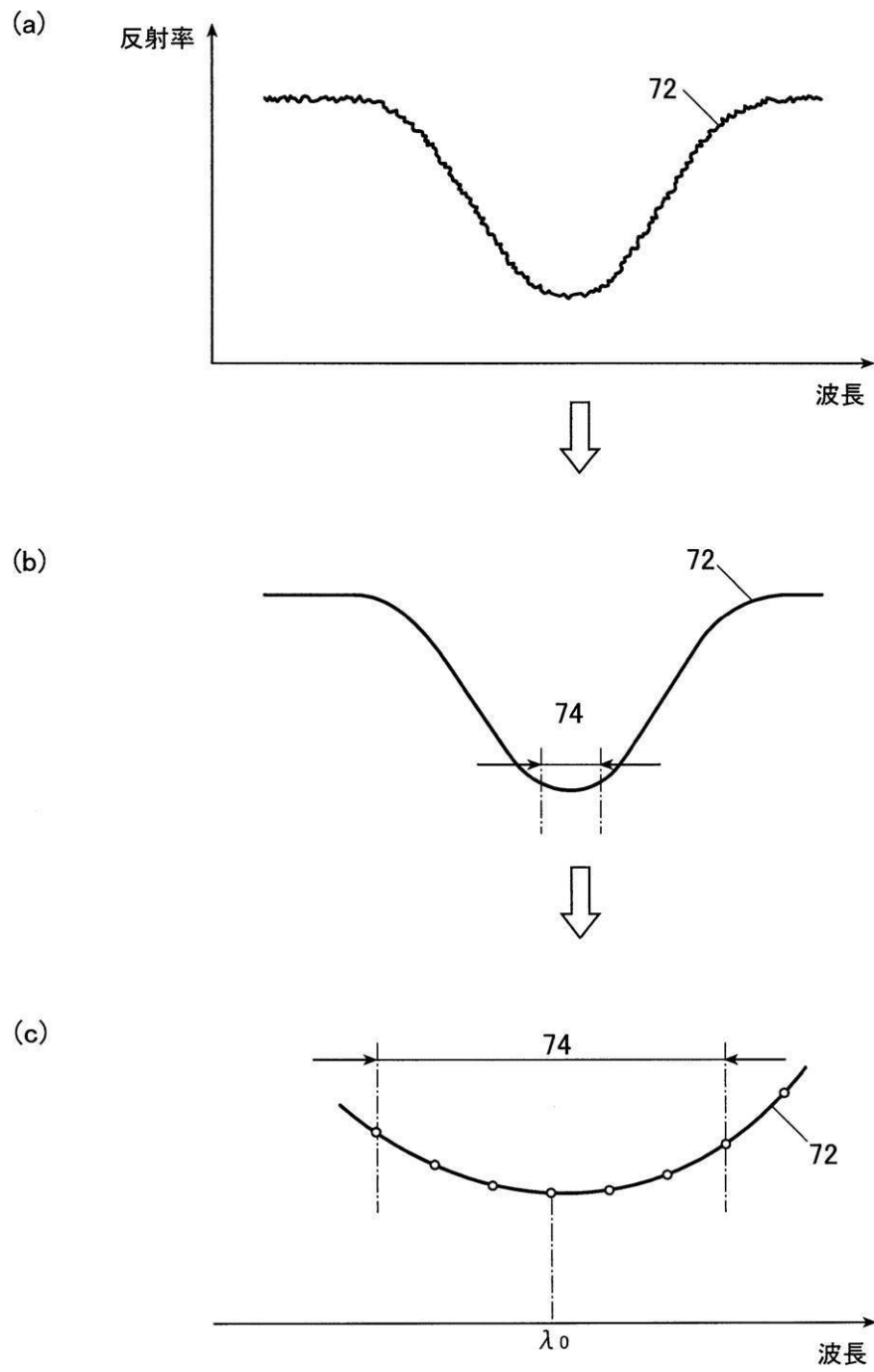
【図 3】



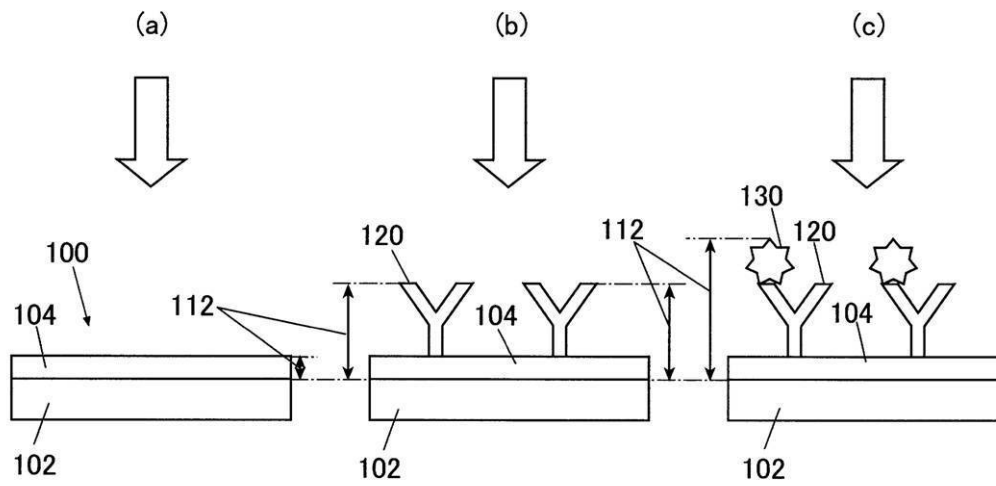
【図 4】



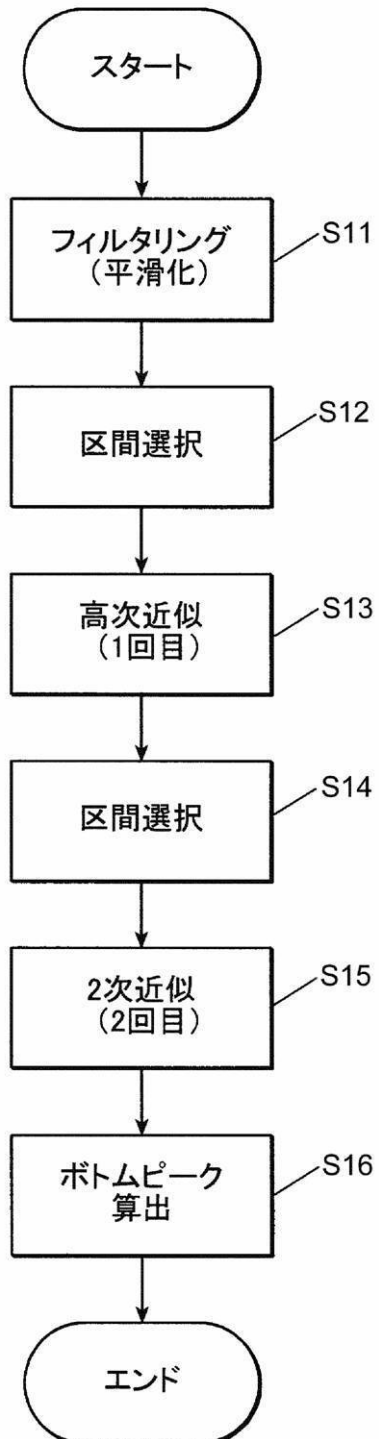
【図 5】



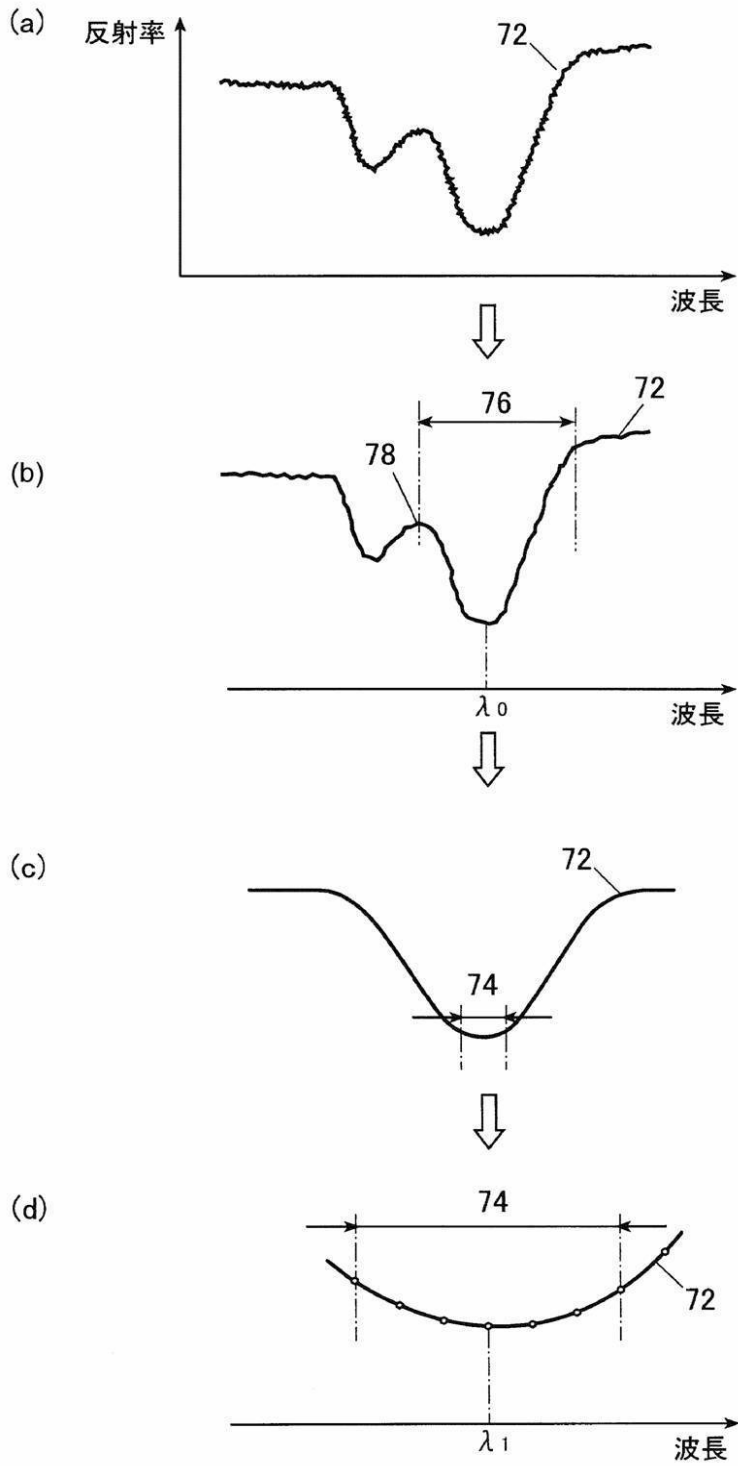
【図 6】



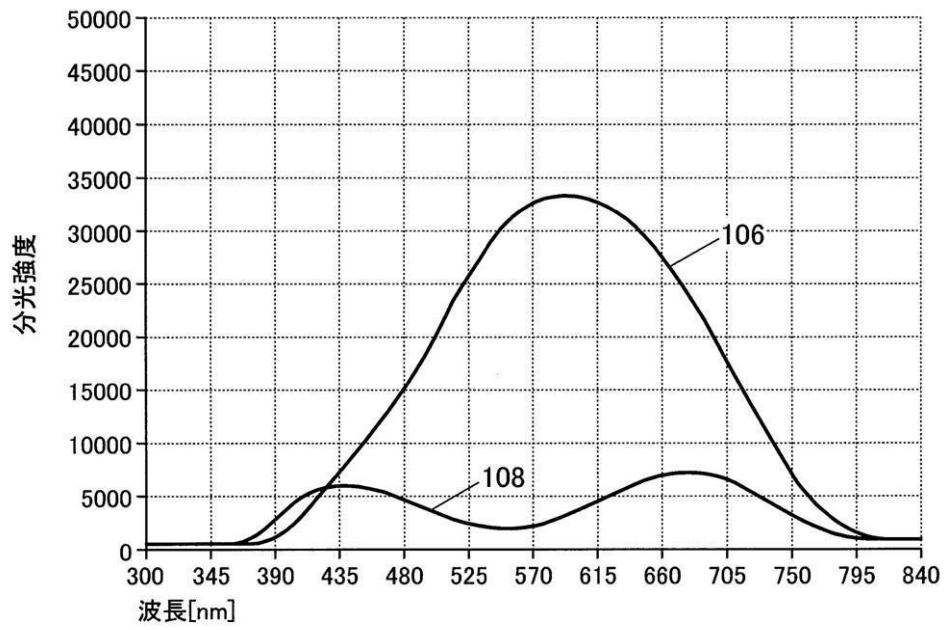
【図 7】



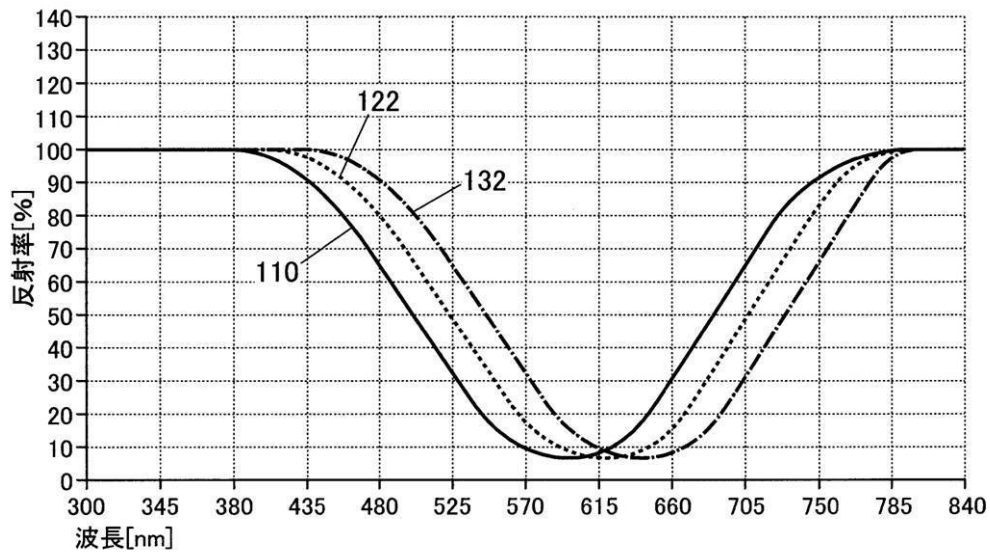
【図 8】



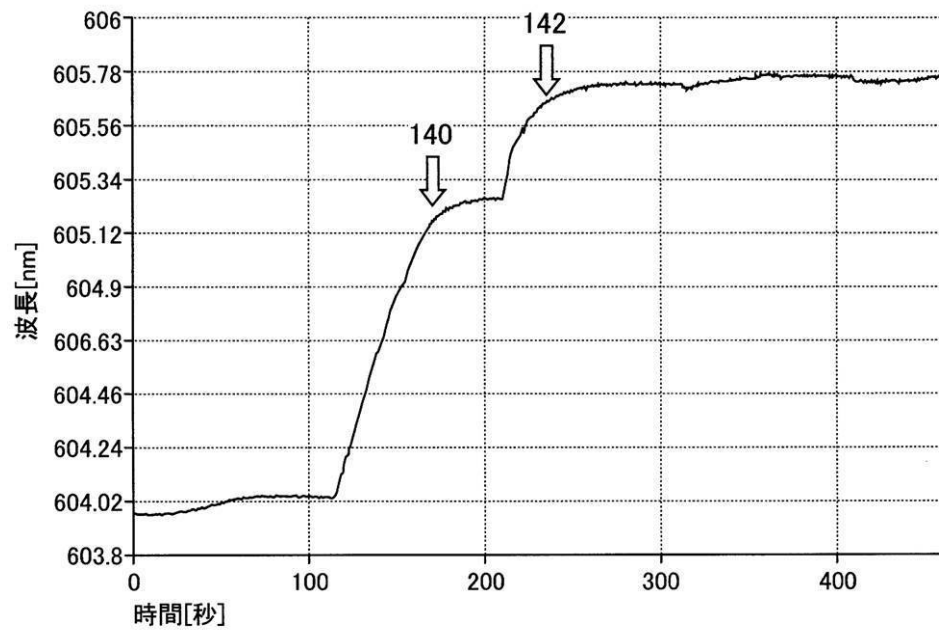
【図 9】



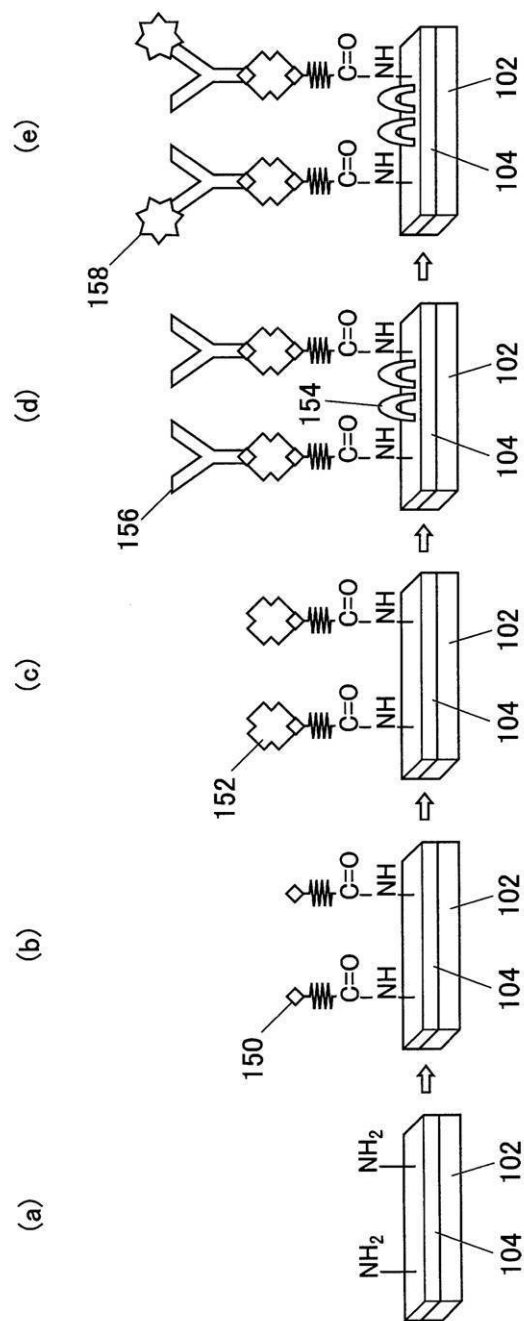
【図 10】



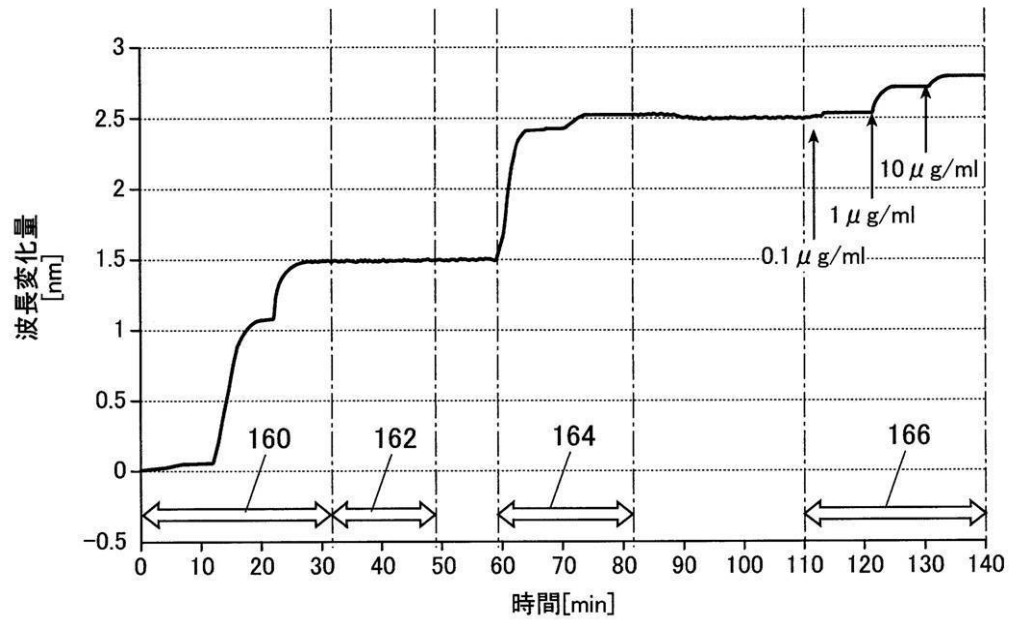
【図 1 1】



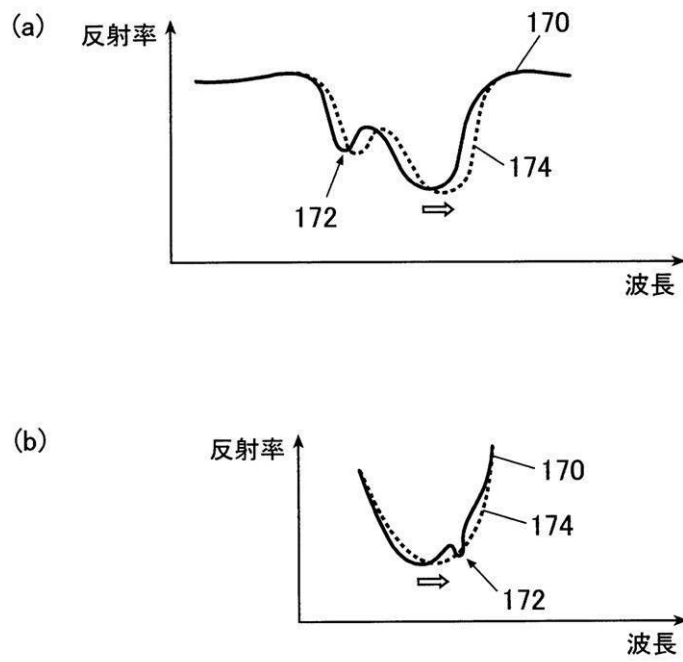
【図 12】



【図 1 3】



【図 1 4】



フロントページの続き

(72)発明者 泉谷 直幹

日本国東京都八王子市石川町2970番地コニカミノルタアドバンストレイヤー株式会社内

審査官 蔵田 真彦

(56)参考文献 特許第3786073 (JP, B2)

特開2009-281792 (JP, A)

特開2006-108305 (JP, A)

特開平11-223597 (JP, A)

FUJIMURA Toru, Silicon-Based Optical Thin-Film Biosensor Array for Real-time Measurements of Biomolecular Interactions, Japanese Journal of Applied Physics, 日本, 応用物理学会, 2005年 4月30日, 44, pp. 2849-2853

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 21/00-21/61、33/48-37/00

G01J 1/00-4/04、7/00-11/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)