

(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 10 月 16 日(16.10.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/168041 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 21/01 (2006.01) *G02B 1/02* (2006.01)
G01N 21/41 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2014/059591
- (22) 国際出願日: 2014 年 3 月 31 日(31.03.2014)
- (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 2013-084190 2013 年 4 月 12 日(12.04.2013) JP
特願 2014-011964 2014 年 1 月 27 日(27.01.2014) JP
- (71) 出願人: 日本精工株式会社(NSK LTD.) [JP/JP]; 〒1418560 東京都品川区大崎 1 丁目 6 番 3 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 横山 景介(YOKOYAMA, Keisuke); 〒2518501 神奈川県藤沢市鵠沼神明 1 - 5 - 5 0 日本精工株式会社内 Kanagawa (JP). 古川 秀樹(FURUKAWA, Hideki); 〒2518501 神奈川県藤沢市鵠沼神明 1 - 5 - 5 0 日本精工株式会社内 Kanagawa (JP). 奥谷 暢子(OKUTANI, Nobuko); 〒2518501 神奈川県藤沢市鵠沼神明 1 - 5 - 5 0 日本精工株式会社内 Kanagawa (JP). 笹尾 邦彦

(SASAO, Kunihiko); 〒2518501 神奈川県藤沢市鵠沼神明 1 - 5 - 5 0 日本精工株式会社内 Kanagawa (JP). 小口 寿明(OGUCHI, Toshiaki); 〒2518501 神奈川県藤沢市鵠沼神明 1 - 5 - 5 0 日本精工株式会社内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 酒井 宏明(SAKAI, Hiroaki); 〒1006020 東京都千代田区霞が関三丁目 2 番 5 号 霞が関ビルディング 酒井国際特許事務所 Tokyo (JP).

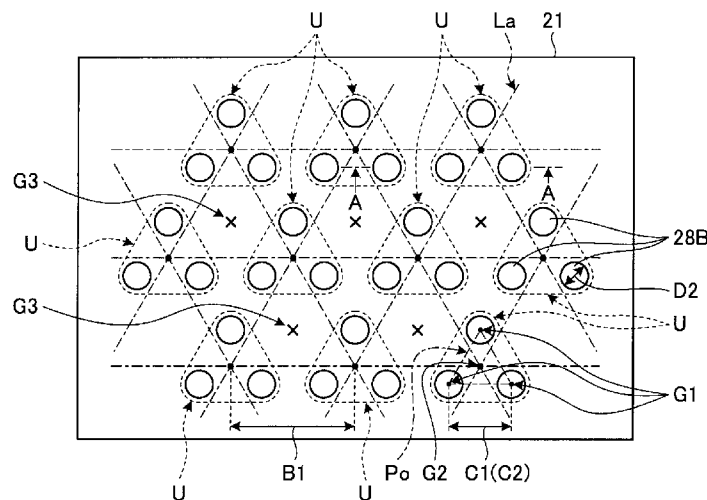
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, 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,

[続葉有]

(54) Title: TARGET SUBSTANCE CAPTURING DEVICE

(54) 発明の名称: 標的物質捕捉装置



(57) Abstract: The purpose of the present invention is to provide a target substance capturing device capable of increasing sensor sensitivity while setting the period of the lattice pattern of a reflection surface to a desired value, and a target substance detection apparatus provided therewith. A target substance capturing device includes a reflection surface in which a plurality of non-flat portions are arrayed and which captures a target substance and reflects applied light. When a natural number of 2 or more is denoted by M and a natural number of 2 or more different from M is denoted by N, an array in which the plurality of non-flat portions are arrayed includes a plurality of unit arrays in each of which the non-flat portions are disposed such that the center of each of the non-flat portions overlaps the position of each of apexes of a figure with M-fold symmetry, and the plurality of unit arrays are disposed such that the center of gravity of the figure with M-fold symmetry overlaps each of the positions of intersection points of a lattice pattern with N-fold symmetry.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2014/168041 A1



GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, 添付公開書類:

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).

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

反射面の格子模様の周期を所望の値にしながらセンサ感度を高めることができる標的物質捕捉装置およびそれを備えた標的物質検出装置を提供することを目的とする。標的物質捕捉装置は、複数の非平坦部が配列され、標的物質を捕捉し、照射された光を反射する反射面を含む。2以上の自然数をMとし、Mとは異なる2以上の自然数をNとしたとき、複数の非平坦部が並べられた配列は、非平坦部がM回対称である図形における頂点の位置に、非平坦部の中心を1つずつ重ねるように配置された単位配列を複数含み、複数の単位配列がN回対称である格子模様の交点の位置に、M回対称である図形の重心を1つずつ重ねるように配置される。

明 細 書

発明の名称： 標的物質捕捉装置

技術分野

[0001] 本発明は、標的物質を検出する標的物質捕捉装置に関する。

背景技術

[0002] タンパク質、細胞などの標的物質を検出したり濃度を測定したりする手段として、フォトニック結晶を用いたバイオセンサが知られている（例えば、非特許文献1）。非特許文献1に記載されているバイオセンサは、金薄膜を形成したフォトニック結晶基板に光を照射し、フォトニック結晶基板で反射された反射光を測定することにより、標的物質の検出や標的物質の濃度の計測などを行っている。特許文献1には、凹凸構造として円柱状の凸部を一般的な四角格子状に配列した、すなわち一つの回転対称性を持つ配置とした反射面を有するバイオセンサが記載されている。非特許文献2には、感度の評価指標として感度性能指数FOM1および感度性能指数FOM2が記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：国際公開第2010/044274号

非特許文献

[0004] 非特許文献1：「Development of a mass-producible on-chip plasmonic nanohole array biosensor」: Kohei Nakamoto, Ryoji Kurita, Osamu Niwa, Toshiyuki Fujiicd and Munehiro Nishida, Received 20th July 2011, Accepted 27th September 2011

非特許文献2：「Sensitivity of Metal Nanoparticle Surface Plasmon Resonance to the Dielectric Environment」: Journal of Physical Chemistry B, 109(46), P21556-21565

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 非特許文献 1 に記載されているバイオセンサは、凹部を三角格子状に配列した反射面を有している。一般的にバイオセンサは、センサ感度を高めるためには、凹部の数を多くする必要がある。また、反射面に入射した光の反射光が極値を示す波長は、反射面の格子模様の周期に依存する。当該波長の特定を容易にするには、反射面の格子模様の周期は所望の値にできることが望ましい。しかし、単純に凹部の数を多くすると、反射面の格子模様の周期が小さくなってしまう。このため、反射面の格子模様の周期を所望の値にしながらセンサ感度を高めることができるバイオセンサが望まれる。

[0006] 本発明は、反射面の格子模様の周期を所望の値にしながらセンサ感度を高めることができる標的物質捕捉装置およびそれを備えた標的物質検出装置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

[0007] 本発明は、複数の非平坦部が配列され、標的物質を捕捉し、照射された光を反射する反射面を含む標的物質捕捉装置であって、2以上の自然数を M とし、 M とは異なる2以上の自然数を N としたとき、前記複数の非平坦部が並べられた配列は、前記非平坦部が M 回対称である図形における頂点の位置に、前記非平坦部の中心を1つずつ重ねるように配置された単位配列を複数含み、複数の前記単位配列が N 回対称である格子模様の交点の位置に、前記 M 回対称である図形の重心を1つずつ重ねるように配置されることを特徴とする標的物質捕捉装置である。

[0008] 本発明に係る標的物質捕捉装置は、単位配列が格子状に配列される。フォトリック結晶を用いたバイオセンサにおいて、反射面に入射した光の反射光が極値を示す波長は、反射面の格子模様の周期に依存する。よって、本発明に係る標的物質捕捉装置においては、反射光が極値を示す波長は、単位配列が形成する格子模様の周期に依存する。また、単位配列は複数の非平坦部を含んでいるため、非平坦部で同様の格子模様を形成するように配列した場合に比べて、反射面全体での非平坦部の数は多くなる。したがって、本発明に

係る標的物質捕捉装置は、反射面の格子模様の周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0009] 本発明において、1つの前記単位配列における前記非平坦部の中心間の最小距離は、前記格子模様の交点間の最小距離の0.4倍以上0.6倍以下であることが好ましい。1つの前記単位配列における前記非平坦部の中心間の最小距離が、前記格子模様の交点間の最小距離の0.4倍以上0.6倍以下であることによって、反射面は、非平坦部を所定の大きさに保ちつつ非平坦部の数を多くすることができるため反射面の比表面積が大きくなる。

[0010] 本発明において、すべての前記非平坦部は、いずれかの前記単位配列に属しており、1つの前記単位配列に属する前記非平坦部は、隣り合う前記単位配列に属する前記非平坦部と異なることが好ましい。これにより、本発明に係る標的物質捕捉装置は、非平坦部が格子模様を形成する可能性を低くできる。したがって、本発明に係る標的物質捕捉装置は、さらに確実に周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0011] 本発明において、前記Mは3であり、前記Nは6であることが好ましい。Mが3であるとき、非平坦部は、単位配列において正三角形の頂点に1つずつ配列される。Nが6であるとき、単位配列は、三角格子状に配列される。これにより、本発明に係る標的物質捕捉装置は、異なる単位配列に属する非平坦部同士の位置関係によって、非平坦部が格子模様を形成する可能性を低くできる。したがって、本発明に係る標的物質捕捉装置は、さらに確実に周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0012] 本発明において、1つの前記単位配列における前記非平坦部の中心間の最小距離は、前記格子模様の交点間の最小距離の0.5倍であることが好ましい。これにより、本発明に係る標的物質捕捉装置は、格子模様の方向に非平坦部が等間隔に並ぶことで、格子模様の周期が乱れにくくなる。このため、反射光のスペクトルの形状の半値幅が小さくなり、測定におけるノイズを低減することができる。したがって、本発明に係る標的物質捕捉装置は、S/N比が向上し、さらにセンサ感度を高めることができる。

[0013] 本発明は、照射された光を反射する反射面を含み、反射面に複数の非平坦部が一定の規則に従って配列されたフォトリック結晶を用いたバイオセンサによって標的物質を捕捉する標的物質捕捉装置であって、前記複数の非平坦部が並べられた配列は、前記非平坦部が正三角形の頂点の位置に、前記非平坦部の中心を1つずつ重ねるように配置された単位配列を複数含み、前記複数の非平坦部が並べられた配列は、 60° の角度でお互いに交差する格子模様の交点の位置に、前記正三角形の重心を1つずつ重ねるように複数の単位配列が配置されていることを特徴とする標的物質捕捉装置である。

[0014] さらに本発明においては、前記正三角形の一辺の長さをC1とした場合に、前記非平坦部の断面の直径がC1の1倍未満であることが好ましい。また、前記非平坦部は必ずしも断面形状が円形である必要はなく、正六角形もしくは星型でも良い。

[0015] 微小な構造が一定の規則に則って表面に配列されるフォトリック結晶を用いたバイオセンサにおいては、測定部の反射面に入射した光の反射光が極値を示す波長は、反射面の格子模様の周期に依存する。よって、本発明に係る標的物質捕捉装置においては、反射光が極値を示す波長は、単位配列が形成する格子模様の周期に依存する。また、単位配列は複数の非平坦部を含んでいるため、非平坦部で同様の格子模様を形成するように配列した場合に比べて、反射面全体での非平坦部の数は多くなる。したがって、本発明に係る標的物質捕捉装置は、反射面の格子模様の周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0016] 本発明に掛かる標的物質捕捉装置においては、前記複数の非平坦部の配列は、前記非平坦部が正三角形の頂点の位置に、前記非平坦部の中心を1つずつ重ねるように配置された単位配列を複数含み、前記単位配列が、 60° の角度でお互いに交差する格子模様の交点の位置に、前記正三角形の重心を1つずつ重ねるように配置されていることを特徴とする。上記の配置とすることで、前記非平坦部の配列はセンサ全体では6回の回転対称性のみを有することになり、反射光のスペクトルには一つのピークが現れることになる。そ

のため、複数の回転対称性を有する配置に比べて高い精度で標的物質の量を測定することができる。

[0017] 本発明において、前記非平坦部の前記反射面に沿った断面が円形であって、前記非平坦部の断面の直径が前記正三角形の一辺の長さの1倍未満であることが好ましい。これにより、隣接する非平坦部が接触しなくなるので、非平坦部の形状が保持されやすくなる。

[0018] 本発明において、前記正三角形の一辺の長さは、前記格子模様の交点間の最小距離の0.5倍であり、前記正三角形の一辺は、前記格子模様を含む直線に平行であることが好ましい。これにより、格子模様Laの方向に非平坦部28Aが等間隔に並ぶことで格子模様Laの周期が乱れにくくなる。このため、反射光のスペクトルの形状の半値幅が小さくなり、測定におけるノイズを低減することができる。したがって、標的物質捕捉装置は、S/N比が向上し、さらにセンサ感度を高めることができる。

[0019] 本発明において、前記非平坦部の前記反射面に沿った断面が正六角形もしくは星型であることが好ましい。これらの形状は6回の回転対称性を有するため、前記非平坦部をこのような形状とすることにより本発明に係る標的物質捕捉装置は、前記非平坦部の配置が6回対称であるのに加えて、前記非平坦部の形状が6回対称となることから、測定精度のさらなる向上を実現できる。

発明の効果

[0020] 本発明の標的物質捕捉装置を用いれば、反射面の格子模様の周期を所望の値にしながらセンサ感度を高めることができる。本発明の標的物質捕捉装置を備えた標的物質検出装置は、反射面の格子模様の周期を所望の値にしながらセンサ感度を高めることができる。

図面の簡単な説明

[0021] [図1]図1は、標的物質検出装置を示す図である。

[図2]図2は、金属膜被覆フォトニック結晶の斜視図である。

[図3]図3は、金属膜被覆フォトニック結晶の平面図である。

[図4]図4は、図3におけるA－A断面を示す図である。

[図5]図5は、比較形態の金属膜被覆フォトニック結晶の平面図である。

[図6]図6は、実施例の反射光の波長に対する反射率を示す図である。

[図7]図7は、比較例の反射光の波長に対する反射率を示す図である。

[図8]図8は、センサとしての感度を、実施例及び比較例について示した図である。

[図9]図9は、非平坦部が凸部である場合の図3におけるA－A断面を示す図である。

[図10]図10は、フォトニック結晶の作製方法を説明する図である。

[図11]図11は、フォトニック結晶の作製方法を説明する図である。

[図12]図12は、フォトニック結晶の作製方法を説明する図である。

[図13]図13は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図14]図14は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図15]図15は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図16]図16は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図17]図17は、フォトニック結晶バイオセンサを説明する図である。

[図18]図18は、フォトニック結晶バイオセンサを説明する図である。

[図19]図19は、フォトニック結晶バイオセンサを説明する図である。

[図20]図20は、フォトニック結晶バイオセンサ固定手段を説明する図である。
。

[図21]図21は、フォトニック結晶バイオセンサ固定手段を説明する図である。
。

[図22]図22は、フォトニック結晶バイオセンサの別の形態を説明する図である。

[図23]図23は、標的物質検出装置の光検出部がフォトニック結晶バイオセンサに光を照射する例を示す図である。

[図24]図24は、標的物質検出装置の光検出部が有する測定プローブの構造を示す図である。

[図25]図25は、標的物質検出装置の光検出部の評価条件を示す図である。

[図26]図26は、標的物質検出方法のフローチャートである。

[図27]図27は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図28]図28は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図29]図29は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図30]図30は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図31]図31は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。
。

[図32]図32は、非平坦部の反射面に沿った断面形状を示した図であり、図32(a)は断面が正六角形の非平坦部を示した図であり、図32(b)は断面が星型の非平坦部を示した図である。

[図33]図33は、第3の実施形態に係る金属膜被覆フォトニック結晶を反射面に対して直交する平面で切った断面図である。

[図34]図34は、第1実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。

[図35]図35は、第1比較例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。

[図36]図36は、第2実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。

[図37]図37は、第2比較例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して

光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。

発明を実施するための形態

[0022] 以下、本発明に係る標的物質検出装置を実施するための形態（以下、実施形態という）を図面に基づいて詳細に説明する。なお、下記の実施形態により本発明が限定されるものではない。また、下記実施形態における構成要素には、当業者が容易に想定できるもの、実質的に同一のもの、いわゆる均等の範囲のものが含まれる。さらに、下記実施形態で開示した構成要素は適宜組み合わせることが可能である。

[0023] [第 1 の実施形態]

<標的物質検出装置>

第 1 の実施形態に係る標的物質捕捉装置を備えた標的物質検出装置について説明する。図 1 は、標的物質検出装置を示す図である。標的物質検出装置 10 は、第 1 の実施形態に係るフォトニック結晶バイオセンサ（標的物質捕捉装置）11 と、光検出部 12 と、処理部 13 とを含む。

[0024] （フォトニック結晶バイオセンサ）

まず、フォトニック結晶バイオセンサ 11 について説明する。フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、金属膜被覆フォトニック結晶 21 と、上部プレート 22 と、下部プレート 23 とを含む。上部プレート 22 は、開口部 24 が設けられている。第 1 の実施形態においては、フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、上部プレート 22 と下部プレート 23 とにより金属膜被覆フォトニック結晶 21 を挟む構造である。なお、第 1 の実施形態においては、フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、上部プレート 22 および下部プレート 23 を含んで形成されているが、これに限定されるものではなく、金属膜被覆フォトニック結晶 21 のみで形成されていてもよい。

[0025] （金属膜被覆フォトニック結晶）

図 2 は、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の斜視図である。図 3 は、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の平面図である。図 4 は、図 3 における A-A 断面を示す図であり、フォトニック結晶 25 の表面 27 と直交する平面でフ

フォトニック結晶 25 を切ったときの断面を示す。なお、図 2 ～図 4 は、模式的に示した図であるため、金属膜被覆フォトニック結晶 21 を構成する成分の厚さ、大きさ等は実際とは異なる。以下、第 1 の実施形態及び後述する他の実施形態においても同様である。図 2 ～図 4 に示すように、金属膜被覆フォトニック結晶 21 は、フォトニック結晶 25 および金属膜 26 を含んでいる。金属膜被覆フォトニック結晶 21 は、フォトニック結晶 25 の表面 27 に非平坦部 28 A が複数配列された反射面 29 を金属膜 26 で被覆している。非平坦部 28 A は、表面 27 に対して窪んだ円柱状の凹部である。

[0026] まず、フォトニック結晶 25 について説明する。一般的に、フォトニック結晶は、表面に所定深さの凹部または所定高さの凸部が周期的に形成された反射面を有し、前記反射面に特定波長の光（平行光）を照射すると、その反射光が得られる構造体である。表面に凹部または凸部が周期的に形成された反射面に光を照射すると、特定波長の反射光が得られる構造体は、一般にフォトニック結晶と呼ばれる。

[0027] フォトニック結晶とは、サブ波長間隔の格子構造を有する構造体である。そして、それは構造体の表面（以後、反射面という）に広領域波長の光を照射すると、フォトニック結晶の表面状態に依存した特定の波長帯の光を、反射または透過するものである。フォトニック結晶の表面状態は、たとえばフォトニック結晶の形状及び材質に依存する。この反射光または透過光の変化を読み取ることにより、フォトニック結晶の表面状態の変化を定量化することができる。フォトニック結晶の表面状態の変化としては、表面への物質の吸着、構造変化などが挙げられる。表面に金属薄膜が形成されたフォトニック結晶も、光が照射されると、光の反射率または光の透過率に極値（極大値または極小値）が現れる。この反射率または透過率の極値は、金属の種類、金属の膜厚、フォトニック結晶の表面形状に依存するものである。この光の反射率または光の透過率を読み取ることにより、フォトニック結晶の表面状態の変化を定量化することができる。金属薄膜については後述する。フォトニック結晶の表面状態の変化を反射光または透過光の変化から定量化するに

は、次の方法を用いることができる。例えば、極値（極大値または極小値）での反射率または透過率の変化量、あるいは反射率または透過率が極値となる波長のシフト量を求めるなどである。なお、反射率または透過率の極値が複数ある場合には、任意の極値に着目する。そして、着目した極値について変化量を求めるか着目した極値となる波長のシフト量を求めることにより、フォトリック結晶の表面状態の変化を定量することができる。

[0028] 図2～図4に示すように、フォトリック結晶25は、表面27に複数の非平坦部28Aが配列されている反射面29を有している。この反射面29に光を照射すると、フォトリック結晶25の形状と材質に依存した特定波長の光が反射される。

[0029] 第1の実施形態において、複数の非平坦部28Aが並べられた配列は、3つの非平坦部28Aが3回対称の図形である正三角形P_oにおける頂点の位置に、非平坦部28Aの中心G₁を1つずつ重ねるように配置された単位配列Uを複数含む。複数の非平坦部28Aが並べられた配列は、6回対称である格子模様L_aの交点の位置に、正三角形P_oの重心G₂を1つずつ重ねるように複数の単位配列Uが配置される。これにより、単位配列Uは、格子模様L_aを形成するように配置される。ここで、フォトリック結晶25の反射面29に入射した光の反射光が極値を示す波長は、反射面29の格子模様L_aの周期に依存する。反射面29において、格子模様L_aの周期は、重心G₂間の最小距離B₁に等しい。よって、第1の実施形態において、反射面29に入射した光の反射光が極値を示す波長は、重心G₂間の最小距離B₁に依存する。

[0030] また、単位配列Uは複数の非平坦部28Aを含んでいるため、非平坦部28Aで格子模様L_aを形成するように配列した場合に比べて、反射面全体での非平坦部28Aの数は多くなる。さらに、単位配列Uにおける非平坦部28Aの中心G₁間の距離C₁は、格子模様L_aの交点間の最小距離に等しい重心G₂間の最小距離B₁の0.4倍以上0.6倍以下であるのが好ましい。このため、反射面29は、重心G₂間の最小距離B₁である格子模様L_a

の周期を小さくせずに非平坦部 28A の数を多くすることができる。そして、反射面 29 は、非平坦部 28A の直径 D1 が所望の大きさに保たれつつ単位面積あたりの非平坦部 28A の数が増える。これにより、第 1 の実施形態のフォトニック結晶 25 は、反射面 29 の比表面積が大きくなることで、センサとして用いたときの感度を高めることができる。したがって、第 1 の実施形態のフォトニック結晶 25 を用いたセンサは、反射面 29 の格子模様 La の周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0031] また、すべての非平坦部 28A は、いずれかの単位配列 U にも属している。1 つの単位配列 U に属する非平坦部 28A は、隣り合う単位配列 U に属する非平坦部 28A と異なる。これより、非平坦部 28A は、例えば、図 3 の位置 G3 には配置されない。ここで位置 G3 は、隣り合う 3 つの正三角形 Po の重心 G2 を線分で結んだ三角形の重心の位置である。第 1 の実施形態のフォトニック結晶 25 は、非平坦部 28A が単独で配置されることがなくなるため、非平坦部 28A が格子模様 La を形成することがなくなる。このため、反射面 29 は、重心 G2 間の最小距離 B1 である格子模様 La の周期を小さくせずに非平坦部 28A の数を多くすることができる。したがって、第 1 の実施形態のフォトニック結晶 25 を用いたセンサは、さらに確実に周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0032] また、中心 G1 間の距離 C1 は、重心 G2 間の最小距離 B1 の 0.5 倍であるのがさらに好ましい。これにより、反射面 29 における単位面積あたりの非平坦部の数が増える可能性が高くなる。反射面 29 は、格子模様 La の方向に非平坦部 28A が等間隔に並ぶことで格子模様 La の周期が乱れにくくなる。このため、反射光のスペクトルの形状の半値幅が小さくなり、測定におけるノイズを低減することができる。したがって、第 1 の実施形態のフォトニック結晶 25 を用いたセンサは、S/N 比が向上し、さらにセンサ感度を高めることができる。

[0033] また、単位配列 U に含まれる非平坦部 28A の数は 3 つでなくてもよい。例えば、単位配列 U に含まれる非平坦部 28A の数は、4 つ以上であっても

よい。また、単位配列Uにおいて非平坦部28Aの中心G1が重なる位置は、正三角形P○の頂点でなくてもよい。例えば、単位配列Uにおいて非平坦部28Aの中心G1が重なる位置は、正三角形以外の回転対称である図形の頂点でもよい。また、正三角形P○の重心G2が重なる位置は、6回対称である格子模様Laの交点でなくてもよい。例えば、正三角形P○の重心G2が重なる位置は、6回対称以外の回転対称である格子模様の交点でもよい。ただし、2以上の自然数をM、2以上の自然数をNとし、単位配列Uにおいて非平坦部28Aの中心G1が重なる位置をM回対称の図形の頂点とし、正三角形P○の重心G2が重なる位置をN回対称である格子模様の交点としたとき、MとNは異なることが必要である。ただし、図2～4に示す第1の実施形態のように、前記Mは3であり、前記Nは6であることが好ましい。これにより、異なる単位配列Uに属する非平坦部28A同士の位置関係によって、非平坦部28Aが格子模様を形成する可能性を低くできる。

[0034] また、非平坦部28Aの直径D1は、重心G2間の距離の0.25倍以下であることが好ましい。また、非平坦部28Aの直径D1は、50nm以上1000nm以下であることが好ましく、より好ましくは、100nm以上500nm以下である。また、非平坦部28Aの中心G1間の最短距離C1は、100nm以上2000nm以下であることが好ましく、より好ましくは、200nm以上1000nm以下である。また、非平坦部28Aの深さをH1としたとき、非平坦部28Aのアスペクト比($H1/D1$)は、0.1以上10以下であることが好ましく、より好ましくは、0.5以上5.0以下である。なお、非平坦部28Aの寸法は、上記のものに限定されない。

[0035] フォトニック結晶25の材質としては、合成樹脂などの有機材料、金属・セラミックなどの無機材料を使用することができる。

[0036] 合成樹脂としては、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリメチルペンテン、ポリシクロオレフィン、ポリアミド、ポリイミド、アクリル、ポリメタクリル酸エステル、ポリカーボネート、ポリアセタール、ポリテトラフルオロエチレン、ポリブチレンテレフタレート、ポリエチレンテレフタレート、ポ

リ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリスチレン、ポリフェニレンサルファイド、ポリエーテルサルフォン、ポリエーテルエーテルケトンなどの熱可塑性樹脂、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂などの熱硬化性樹脂を使用することができる。

[0037] セラミックとしては、シリカ、アルミナ、ジルコニア、チタニア、イットリアなどのセラミックを好適に使用することができる。

[0038] 金属としては、鉄鋼材料をはじめとして各種合金が使用可能である。具体的には、ステンレス鋼、チタンまたはチタン合金などを好適に使用することができる。

[0039] 上記した各種材料の中でも、光学特性、加工性、標的物質（ターゲットとなる物質）を含有する溶液に対する耐性、標的物質捕捉物質（特異的結合物質）の吸着性、洗浄剤に対する耐性などを考慮すると、ポリシクロオレフィン系合成樹脂若しくはシリカ系のセラミックがより好ましい。この中でも、ポリシクロオレフィン系合成樹脂は、加工性に優れており最も好適である。

[0040] フォトニック結晶 25 は、上記材料基板の表面に微細な加工を施すことにより作製される。加工方法としては、レーザー加工、熱ナノインプリント、光ナノインプリント、フォトマスクとエッチングの組合せなどが使用できる。特に、ポリシクロオレフィン系合成樹脂などの熱可塑性樹脂を材料とする場合には、熱ナノインプリントによる方法が好適である。

[0041] 次に、金属膜 26 について説明する。例えば、第 1 の実施形態においては、図 4 に示すように、フォトニック結晶 25 は、その反射面 29 が金属膜 26 で被覆されている。金属膜 26 は、金（Au）、銀（Ag）、白金（Pt）またはアルミニウム（Al）のうちの何れか 1 種類以上を用いて形成されることが好ましい。第 1 の実施形態において、金属膜 26 は Au で形成されている。Au は、安定性に優れるため、反射面 29 として好ましい。金属膜 26 に銀（Ag）またはアルミニウム（Al）のうちの何れか 1 種類以上を用いる場合、金で表面を被覆することが好ましい。このようにすることで、金の使用量を低減してフォトニック結晶 25 の製造コストを抑制することが

できる。

[0042] 金属膜被覆フォトニック結晶21は、フォトニック結晶25の反射面29を金属膜26で被覆したものであるため、フォトニック結晶25の非平坦部28Aに対応して反射面29に金属膜被覆フォトニック結晶21の非平坦部28Bが形成されている。また、非平坦部28Bの直径D2は、重心G2間の最小距離B1の0.25倍以下であることが好ましい。また、非平坦部28Bの直径D2は、金属膜26の厚さにもよるが、50nm以上1000nm以下であることが好ましく、より好ましくは、100nm以上500nm以下である。また、非平坦部28Bの中心G1間の最短距離C2は、80nm以上2400nm以下であることが好ましく、より好ましくは、200nm以上1000nm以下である。また、非平坦部28Bの深さをH2としたとき、非平坦部28Bのアスペクト比($H2/D2$)は、0.1以上10以下であることが好ましく、より好ましくは、0.5以上5.0以下である。なお、非平坦部28Bの寸法は、上記のものに限定されない。

[0043] 金属膜26の膜厚が小さいと、フォトニック結晶25への入射光の一部は金属膜26を透過することがある。その結果、反射光から得られる情報量の低下、回折光またはフォトニック結晶25の裏面からの反射光など、フォトニック結晶25からの反射光には不要な情報が多く含まれる可能性がある。金属膜26の膜厚を適度に大きくすることにより、フォトニック結晶25からの反射光に含まれる不要な情報を低減して、標的物質の検出精度及び濃度の計測精度を向上させることができる。また、金属膜26の膜厚が適度に小さいと、フォトニック結晶25の表面27に詳細なパターン形状を作製することが容易であるので好ましい。例えば、パターンの角がシャープになって、パターンの寸法を確保することが容易となる。このような観点から、第1の実施形態において、金属膜26の膜厚は、好ましくは30nm以上1000nm以下であり、より好ましくは150nm以上500nm以下であり、さらに好ましくは200nm以上400nm以下である。波長に対する反射率の変化は、金属膜26の膜厚が200nmを超えるとほぼ同様になるため

である。

[0044] また、金属膜26は、スパッタリングまたは蒸着装置などによってフォトニック結晶25の反射面29に形成することができる。金属膜26の最表面は、Auとすることが好ましい。金属膜26にAg、Pt、Alを用いた場合、それぞれの極値における反射光の波長は、Auを金属膜26として用いた場合に対して1.5倍となる。このように、Ag、Pt、Alは、Auよりも1.5倍の感度を有する。なお、Agは酸化されやすいので、フォトニック結晶25の反射面29にAgを形成した後、酸化されにくいAuまたはSiO₂などの酸化物薄膜を形成することが好ましい。この場合、200nmの厚さを有するAgの膜の表面に、5nmの厚さを有するAuの膜を形成することができる。200nmの厚さを有するAgの膜の表面に5nmの厚さを有するAuの膜を形成した場合、200nmの厚さを有するAuの膜に比べて、感度が1.5倍になる。また、5nmのAuの膜の有無で、感度の変化は見られなかった。AlもAgと同様に酸化されやすいので、フォトニック結晶25の表面27にAlの膜を形成した後、酸化されにくいAuまたはSiO₂などの酸化物薄膜を形成することが好ましい。抗体などで修飾するために、Ptも、AuまたはSiO₂などの酸化物薄膜を形成することが好ましい。

[0045] また、フォトニック結晶25の反射面29は、3-triethoxysilylpropylamine (APTES) などを用いて改質されることが好ましい。フォトニック結晶25の反射面29に、AuまたはAgの金属膜26を形成させた場合には、APTESではなく、一端にチオール基を有し、他端にアミノ基やカルボキシル基などの官能基を有する炭素鎖を用いてフォトニック結晶25の反射面29を改質することが好ましい。AuまたはAg以外の金属膜26をフォトニック結晶25の反射面29に形成させた場合は、一端に官能基を有するシラン系カップリング剤、例えばAPTESを使用して、フォトニック結晶25の反射面29を改質することが好ましい。

[0046] 第1の実施形態において、金属膜被覆フォトニック結晶21の表面に並べ

られた複数の非平坦部 28B の配列は、3つの非平坦部 28B が正三角形 P o における頂点の位置に、非平坦部 28B の中心 G 1 を 1 つずつ重ねるように配置された単位配列 U を複数含む。さらに、複数の非平坦部 28B が並べられた配列は、 60° の角度でお互いに交差する格子模様 L a の交点の位置に、正三角形 P o の重心 G 2 を 1 つずつ重ねるように複数の単位配列 U が配置される。これにより、単位配列 U は、格子模様 L a を形成するように配置される。ここで、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に入射した光の反射光が極値を示す波長は、反射面 29 の格子模様 L a の周期に依存する。反射面 29 において、格子模様 L a の周期は、重心 G 2 間の最小距離 B 1 に等しい。よって、第 1 の実施形態において、反射面 29 に入射した光の反射光が極値を示す波長は、重心 G 2 間の最小距離 B 1 に依存する。

[0047] また、単位配列 U は複数の非平坦部 28B を含んでいるため、非平坦部 28B で格子模様 L a を形成するように配列した場合に比べて、反射面全体での非平坦部 28B の数は多くなる。さらに、非平坦部 28B の中心 G 1 間の最短距離であって単位配列 U における正三角形 P o の一辺の長さ C 1 は、格子模様 L a の交点間の最小距離に等しい重心 G 2 間の最小距離 B 1 の 0.4 倍以上 0.6 倍以下であるのが好ましい。

[0048] この結果、反射面 29 は、重心 G 2 間の最小距離 B 1 である格子模様 L a の周期を小さくせずに非平坦部 28B の数を多くすることができる。そして、反射面 29 は、非平坦部 28B の直径 D 2 が所望の大きさに保たれつつ単位面積あたりの非平坦部 28B の数が多くなる。これにより、第 1 の実施形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 は、反射面 29 の比表面積が大きくなることで、センサとして用いたときの感度を高めることができる。したがって、第 1 の実施形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 を用いたセンサは、反射面 29 の格子模様 L a の周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0049] また、すべての非平坦部 28B は、いずれかの単位配列 U にも属している。1つの単位配列 U に属する非平坦部 28B は、隣り合う単位配列 U に属す

る非平坦部 28B と異なる。これより、非平坦部 28B は、例えば、図 3 の位置 G3 には配置されない。ここで位置 G3 は、隣り合う 3 つの正三角形 P の重心 G2 を線分で結んだ三角形の重心の位置である。第 1 の実施形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 は、非平坦部 28B が単独で配置されることがなくなるため、非平坦部 28B が格子模様 La を形成することがなくなる。このため、反射面 29 は、重心 G2 間の最小距離 B1 である格子模様 La の周期を小さくせずに非平坦部 28B の数を多くすることができる。したがって、第 1 の実施形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 を用いたセンサは、さらに確実に周期を所望の値にしながら、センサ感度を高めることができる。

[0050] 非平坦部 28B をこのような配置とすることで、反射面 29 には非平坦部 28B が 6 回の回転対称性のみを持って配置される。そのため、反射光のスペクトルに一つの大きなピークが現れることになり、また、ピーク形状の深さが大きくなる。その結果、反射面 29 上の微小な変化を高精度に検出することが可能になり、さらに測定におけるノイズを低減することができる。したがって、第 1 の実施形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 を用いたセンサは、複数の回転対称性を有する配置に比べて S/N 比が向上し、さらにセンサ感度を高めることができる。

[0051] 非平坦部 28B の直径 D2 は、正三角形 P の一辺の長さ C1 の 1 倍未満であることが好ましい。D2 が C1 の 1 倍以上になると隣接する非平坦部 28B が接触するので好ましくない。さらに、非平坦部 28B の反射面 29 に沿った断面形状は必ずしも円形である必要はなく、図 32 (a) に示すような正六角形や、図 32 (b) に示すような星形としても良い。非平坦部 28B をこのような形状とすることで、非平坦部 28B に鋭利なエッジ部が形成される。その結果、エッジ効果によって電場集中が促進され、センサの感度をさらに向上させることができる。また、反射面 29 における非平坦部 28B の配置が 6 回対称であるのに加えて、非平坦部 28B の形状自体も 6 回対称となることから、反射光のスペクトルにはより明確な一つのピークが現れ

ることになり、センサ感度を向上させることができる。なお、非平坦部 28 B の反射面 29 に沿った断面形状において、円形は略円形を含む。略円形とは、真円と比較すると形状が崩れているものの、真円からのズレが加工誤差の範囲内である円形を意味する。すなわち、略円形とは、真円ではないが、真円を意図して形成された円形を意味する。

[0052] 正三角形 P o の一辺の長さは、格子模様 L a の交点間の最小距離の 0.5 倍であり、正三角形 P o の一辺は、格子模様 L a が含む直線に平行であることが好ましい。格子模様 L a の方向に非平坦部 28 A が等間隔に並ぶことで格子模様 L a の周期が乱れにくくなる。このため、反射光のスペクトルの形状の半値幅が小さくなり、測定におけるノイズを低減することができる。したがって、第 1 の実施形態のフォトニック結晶 25 を用いたセンサは、S/N 比が向上し、さらにセンサ感度を高めることができる。

[0053] 次に比較形態について説明する。図 5 は、比較形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 の平面図である。比較形態において、複数の非平坦部 28 A、28 B が並べられた配列は、6 回対称である格子模様 L a の交点の位置に中心 G 1 が 1 つずつ重なるように配置される。比較形態における中心 G 1 間の距離は、第 1 の実施形態における重心 G 2 間の最小距離 B 1 と等しい。

[0054] 図 2 ～ 4 に示す第 1 の実施形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 を用いて波長スペクトルを測定した結果を実施例とする。また、図 5 に示す比較形態の金属膜被覆フォトニック結晶 21 を用いて波長スペクトルを測定した結果を比較例とする。実施例及び比較例は、非平坦部 28 B の直径 D 2 を 200 nm、重心 G 2 間の最小距離 B 1 が 600 nm としたときの結果である。図 6 は、実施例の反射光の波長に対する反射率を示す図である。図 7 は、比較例の反射光の波長に対する反射率を示す図である。図 6 と図 7 より、実施例及び比較例は、重心 G 2 間の最小距離 B 1 が 600 nm であることに起因する、反射率が極値を示す波長を示していることがわかる。

[0055] 図 8 は、センサとしての感度を、実施例及び比較例について示した図である。図 8 は、反射面 29 の表面 27 にビオチンを固定化し、100 nm のア

ビジンを反応させたときの、極値となる波長のシフト量から求まるセンサとしての感度を、実施例及び比較例について示す。図8より、実施例は、比較例よりもセンサとしての感度が高いことがわかる。この理由は、反射面29における格子模様Laの周期は重心G2間の最小距離B1で同じであっても、単位面積あたりの非平坦部28A、28Bの数が、比較例よりも実施例の方が多くなるためである。

[0056] なお、上記の説明において、第1の実施形態に係る非平坦部は、図4で示したような凹部であるとしたが、図9に示すように凸部であってもよい。このとき非平坦部28A、28Bは、表面27に対して突出した円柱状の凸部である。図9は、非平坦部が凸部である場合の図3におけるA-A断面を示す図である。

[0057] (フォトリソグラフィによるフォトニック結晶の作製方法)

次に、熱ナノインプリントにより金属膜被覆フォトニック結晶21を作製する工程の一例を説明する。図10、図11及び図12は、フォトニック結晶の作製方法を説明する図である。図10に示すように、熱ナノインプリントでは、ナノメートルレベルの微細構造、またはナノメートルレベルの周期構造のパターンを有する金型D1を用いる。そして、図11に示すように、加熱した金型D1をシート状の樹脂Pに押し付けて、所定圧力で所定時間押圧し、金型D1の表面温度が所定温度になったところで離型し、微細構造及び周期構造をシート状の樹脂Pに転写する。これにより、フォトニック結晶25が得られる。

[0058] 樹脂Pがシクロオレフィン系ポリマーの場合には、金型D1を160℃程度まで加熱し、約12MPaの圧力で所定時間押圧し、金型D1の表面温度が60℃程度になったところで離型することが好ましい。

[0059] フォトリソグラフィによるフォトニック結晶25を作製した後、図12に示すように、金型D1と接していた表面に、スパッタリングまたは蒸着装置などによって金属膜26を形成して、金属膜被覆フォトニック結晶21が完成する。

[0060] (標的物質捕捉物質)

次に、標的物質を捕捉する標的物質捕捉物質について説明する。標的物質とは、標的物質検出装置 10 が検出する対象物であって、タンパク質などの高分子、オリゴマー、低分子のいずれであってもよい。標的物質は、単分子に限定されず、複数の分子からなる複合体であってもよい。標的物質として、例えば、大気中の汚染物質、水中の有害物質、人体内のバイオマーカー (Biomarker) などが挙げられる。中でも、コルチゾールなどが好ましい。コルチゾールは、分子量 362 g/mol の低分子物質である。コルチゾールは、人間がストレスを感じると唾液中のコルチゾール濃度が増加するため、人間が感じているストレスの度合いを評価する物質として注目されている。コルチゾールを標的物質としてその濃度を測定すれば、例えば、ヒトの唾液に含まれるコルチゾールの濃度を測定することで、ストレスの度合いを評価することができる。ストレスの度合いを評価すれば、被測定者がうつ病などの精神疾患につながるレベルのストレス状態にあるか否かを判断することができる。

[0061] 標的物質捕捉物質とは、標的物質と結合し、標的物質を捕捉する物質である。ここで、結合するとは、化学的に結合する場合の他、例えば物理吸着、ファンデルワールス力による結合のように、化学的結合によらない結合であってもよい。好ましくは、標的物質捕捉物質は、標的物質と特異的に反応して標的物質を捕捉するものであり、標的物質を抗原とした抗体であることが好ましい。特異的に反応するとは、選択的に標的物質と可逆的または不可逆的な結合をして複合体を形成することを意味し、化学反応に限定されない。また、特異的に反応する物質が標的物質以外に存在していても構わない。試料中に標的物質の他に標的物質捕捉物質と反応する物質があっても、その親和性が標的物質と比較して非常に小さい場合は、標的物質を定量することができる。標的物質捕捉物質は、標的物質を抗原とした抗体、人工的に作製した抗体、アデニン、チミン、グアニン、シトシンなどの DNA を構成する物質から構成される分子、ペプチドなどを用いることができる。標的物質がコルチゾールである場合は、標的物質捕捉物質は、コルチゾール抗体であるこ

とが好ましい。

[0062] 標的物質捕捉物質を作製するには公知の方法を採用することができる。例えば、抗体は、血清法、ハイブリドーマ法、ファージディスプレイ法によって作製できる。DNAを構成する物質から構成される分子は、例えばSELEX法 (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment:試験管内人工進化法) により作製できる。ペプチドは、例えばファージディスプレイ法により作製できる。標的物質捕捉物質は、何らかの酵素・同位体により標識されている必要はない。しかし、酵素・同位体によって標識されていてもよい。

[0063] 第1の実施形態において、標的物質捕捉物質は、図4に示す金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に固定される。標的物質捕捉物質を金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に固定する手段として、共有結合、化学吸着、物理吸着などの化学的結合、物理的結合方法が挙げられる。これらの手段を、標的物質捕捉物質の性質に応じて適宜選択することができる。例えば、固定する手段として吸着を選択した場合、吸着の操作は以下のようなものである。例えば、標的物質捕捉物質を含んだ溶液を、金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に滴下し、金属膜被覆フォトニック結晶21を、所定の時間、室温で、または必要に応じて冷却・加温して、標的物質捕捉物質を反射面29に吸着させる。

[0064] フォトニック結晶バイオセンサ11は、特定の抗原（例えばコルチゾール）とのみ結合する抗体（例えばコルチゾール抗体）を金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29の表面に予め吸着（固定）させておく。これにより、フォトニック結晶バイオセンサ11は、特定の抗原を検出することができる。これは、フォトニック結晶25の光学的特性と、フォトニック結晶25の表面または表面近傍で起こる各種の生体・化学反応、例えば特定の抗原は特定の抗体とのみ反応するという抗原抗体反応とを利用するものである。

[0065] フォトニック結晶バイオセンサ11は、標的物質捕捉物質である抗体が固定された反射面29に、ブロッキング剤（保護物質）が固定されたものであ

ってもよい。ブロッキング剤は、標的物質がフォトニック結晶バイオセンサ 11 に接触させられる前に固定される。フォトニック結晶 25 の反射面 29 の表面は、一般的に超疎水性である。このため、疎水性相互作用によって標的物質捕捉物質である抗体以外の不純物が、反射面 29 に吸着してしまうおそれがある。さらに、フォトニック結晶 25 の光学特性は表面状態に大きく影響されるので、フォトニック結晶 25 の反射面 29 には、不純物が吸着されていないことが好ましい。フォトニック結晶 25 の反射面 29 にブロッキング剤が固定されることで、反射光の検出精度を向上させることができる。

[0066] したがって、標的物質捕捉物質である抗体がフォトニック結晶 25 の反射面 29 に吸着（固定）された部分以外の箇所には、不純物などが固定されないように、いわゆるブロッキング剤を予め固定しておくことが好ましい。ブロッキング剤を予め吸着させておくには、ブロッキング剤を、フォトニック結晶 25 の表面に接触させる。ブロッキング剤として、スキムミルクやウシ血清アルブミン（BSA）などを使用することができる。

[0067] 次に、フォトニック結晶バイオセンサ 11 が標的物質である抗原及びその濃度を検出する基本的な原理を説明する。図 13～図 16 は、フォトニック結晶バイオセンサ 11 の原理を説明する図である。一般的に、フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、フォトニック結晶 25 の光学的特性と、フォトニック結晶 25 の表面または表面近傍で起こる各種生体・化学反応、例えば、特定の抗原は特定の抗体とのみ反応するという抗原抗体反応とを利用して、微量のタンパク質または低分子物質を検出するものである。そして、フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に特定波長の光を照射したときの表面プラズモン共鳴現象及び／または局在表面プラズモン共鳴現象による反射光の波長の極値がシフトする現象を利用する。

[0068] 図 13 に示すように、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 の表面には、抗体（標的物質捕捉物質）34 が吸着により固定されている。

[0069] 次に、図 14 に示すように、反射面 29 の抗体 34 が吸着した部分以外の

箇所、すなわち、抗体 3 4 が吸着した部分以外の反射面 2 9 に、ブロッキング剤（保護物質）3 5 を予め吸着させる。これにより、反射面 2 9 の抗体 3 4 が吸着した部分以外の箇所に不純物などが吸着しないようにする。

[0070] 次に、図 1 5 に示すように、抗体 3 4 とブロッキング剤 3 5 とが吸着されているフォトニック結晶バイオセンサ 1 1 に抗原（標的物質）3 6 を接触させ、抗原抗体反応を行う。抗体 3 4 に抗原 3 6 が捕捉された複合体 3 7 が、反射面 2 9 に固定される。

[0071] 次に、図 1 に示す光検出部 1 2 は、図 1 6 に示すように、抗原 3 6 がフォトニック結晶 2 5 の反射面 2 9 に捕捉されている状態で特定波長の光（入射光）L 1 を平行光で金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 に照射する。そして、図 1 に示す光検出部 1 2 は、反射面 2 9 で反射された反射光 L R を検出し、反射光 L R の極値の波長を求める。そして、図 1 に示す処理部 1 3 は、反射光 L R の強度の極値における波長及び強度の極値における波長のシフト量を求めて、金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 に捕捉された抗原 3 6 の有無を検出したり、抗原 3 6 の濃度を求めたりする。

[0072] フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 は、上記原理に基づき、抗体 3 4 および抗原 3 6 の組合せの種類を変えることにより、検出対象の物質であるタンパク質などの各種生体物質または低分子量物質の種類を変えることができる。

[0073] フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 では、反射面 2 9 に固定された抗体 3 4 に抗原 3 6 が捕捉されることにより、反射面 2 9 の状態が変化し、反射光 L R に変化が生じる。フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 は、光学的な物理量を出力する。この物理量は、金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 における表面状態の変化に相関し、反射面 2 9 に固定された抗体 3 4 に抗原 3 6 が捕捉されて形成される複合体 3 7 の量と相関する。光学的な物理量は、例えば、反射光 L R の強度が極値となる波長のシフト量、光の反射率の変化量、光の反射率が極値となる波長のシフト量、反射光 L R の強度、反射光 L R の強度の極値の変化量などである。第 1 の実施形態では、反射光 L R

の強度または光の反射率が極値となる波長のシフト量を用いる。

[0074] 光学的な物理量を出力させるには、例えば以下のようにして行う。金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に対して垂直に光を入射し、反射光 L R を検出する。金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 の垂線に対して角度をつけて光を入射し、反射光 L R を検出することもできる。反射光 L R を検出することにより、図 1 に示す標的物質検出装置 10 をコンパクトにすることができる。垂直に入射され、垂直に反射された光を検出する場合には、二股の光ファイバーを用いて光を入射し、反射光 L R を検出することが好ましい。この構造については後述する。

[0075] (フォトニック結晶バイオセンサの作製方法)

次に、図 1 に示すフォトニック結晶バイオセンサ 11 の作製の一例について説明する。図 17、図 18 及び図 19 は、フォトニック結晶バイオセンサ 11 の説明図である。図 17 に示すように、金属膜被覆フォトニック結晶 21 を下部プレート 23 に設置した後、図 18 に示すように、上部プレート 22 を下部プレート 23 の上に設置して、金属膜被覆フォトニック結晶 21 を、下部プレート 23 と上部プレート 22 とにより挟むことにより、フォトニック結晶バイオセンサ 11 が作製される。開口部 24 の下部プレート 23 側における端部は、フォトニック結晶 25 の反射面 29 により閉塞される。このような構造により、上部プレート 22 は、開口部 24 側の内壁と反射面 29 とで囲まれて形成される、一定容積の液滴保持部 38 を有する。開口部 24 側の内壁とは、上部プレート 22 と開口部 24 との境界面である、上部プレート 22 の内壁をいう。

[0076] 図 19 は、液滴保持部 38 に所定の溶液を滴下した状態を示す。この場合、液滴保持部 38 が液滴保持機能を発揮するため、開口部 24 から溶液が流出するのを抑制する。また、溶液の量としては、液滴保持部 38 に広がる程度の量があれば、標的物質の十分な検出・測定が可能となる。

[0077] 開口部 24 の形状は、円柱形に限らず、開口部 24 の内部に液滴を保持することができれば、他の形状としてもよい。また、開口部 24 を円柱状とし

た場合、その直径などは、抗体 3 4 及び抗原 3 6 の組合せの種類、必要な測定精度または反射光の検出器の光学系に合わせて様々な直径とすることができる。開口部 2 4 の直径は、上述した抗体 3 4 に抗原 3 6 を吸着させる際の操作、取扱いの利便性などを考慮し、0.5 mm～10 mmであることが好ましく、より好ましくは、2 mm～6 mmである。

[0078] 上部プレート 2 2 および下部プレート 2 3 の材質などは、特に限定されない。ただし、上部プレート 2 2 および下部プレート 2 3 の表面の清浄度などを考慮すると、ステンレス鋼、ポリシクロオレフィン系樹脂、シリカなどを用いて形成されることが好ましい。

[0079] 次に、フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 の別の形態について説明する。上部プレート 2 2 は、疎水性の材料で形成してもよい。特に、唾液などのいわゆる親水性の溶液の検出・測定を行う場合に、上部プレート 2 2 が疎水性の材料で形成されていれば、液滴保持部 3 8 に的確に溶液を集めることができる。また、脂質などのいわゆる親油性の溶液の検出・測定を行う場合、上部プレート 2 2 が疎水性の材料で形成されていれば、液滴保持部 3 8 に的確に溶液を集めることができる。

[0080] さらに、上部プレート 2 2 は、撥水性若しくは撥油性または撥水撥油性のある材料で形成してもよい。また、疎水性、親水性、撥水性、撥油性を発揮する表面処理またはコーティングを上部プレート 2 2 に施してもよい。このようにすることで、液滴保持部 3 8 に的確に溶液を集めることができる。

[0081] フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 は、フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 の下部に、図 1 に示す光検出部 1 2 に対してフォトニック結晶バイオセンサ 1 1 の位置を定めて、フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 を固定するための固定材（標的物質捕捉部固定手段、フォトニック結晶バイオセンサ固定手段）を装着することが好ましい。固定材としては、マグネットシート、両面テープ、接着剤などが使用できる。また、フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 を固定するために、固定材ではなく、固定機構として真空チャックまたは静電チャックを用いてもよい。フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 を固定し

ておくことにより、検出・測定時の振動などによる測定位置のずれを減少することが可能となる。その結果、より正確な検出・測定ができる。

[0082] 図20、図21は、フォトニック結晶バイオセンサ固定手段を説明する図である。図20は、マグネットシート39の取付け前の状態を示し、図21は、マグネットシート39の取付け後の状態を示す。フォトニック結晶バイオセンサ11は、フォトニック結晶バイオセンサ11の下部側にマグネットシート39が取り付けられている。マグネットシート39は、フォトニック結晶バイオセンサ固定手段として機能する。

[0083] フォトニック結晶バイオセンサ11は、熱ナノインプリントなどにより均一に作製されている。標的物質検出装置10がより正確に反射光の検出ができるようにするため、フォトニック結晶バイオセンサ11に照射される光の入射部位、反射部位を正確に位置決めすることが好ましい。

[0084] すなわち、フォトニック結晶バイオセンサ11と後で説明する測定プローブとの測定時の位置関係は、抗原抗体反応の前後で同一であることが好ましく、同一の部分測定することが好ましい。したがって、測定プローブとフォトニック結晶バイオセンサ11の反射面29との距離は、抗原抗体反応の前後で同一であることが好ましく、 $50\mu\text{m}$ ～ $500\mu\text{m}$ に固定することが好ましい。フォトニック結晶バイオセンサ11は、上部プレート22を含むことで、上部プレート22がスペーサとして機能し、測定プローブとフォトニック結晶バイオセンサ11の反射面29との距離を一定にすることができる。

[0085] また、フォトニック結晶バイオセンサ11に、反射面29における特定の位置を表示する、位置決め用のマーカーによってマークを付けるようにしてもよい。マーカーは、フォトリソグラフィー、スパッタリング、蒸着、これらを利用したリフトオフプロセス、インクなどによる印刷またはインプリントによるパターン形成などによって付けることができる。マーカーは、その位置を読み取ることができればフォトニック結晶バイオセンサ11の表面（反射面29側）または裏面（反射面29の反対側）のどちらに付けてもよい。

。また、フォトニック結晶２５の測定部分を外してフォトニック結晶２５自体にマーカーを付けてもよい。さらに、マーカーを上部プレート２２、下部プレート２３に付けてもよい。

[0086] 次に、フォトニック結晶バイオセンサ１１の更に別の形態について説明する。図２２は、フォトニック結晶バイオセンサ１１の別の形態を説明する図である。図２２に示すように、フォトニック結晶バイオセンサ１１は、開口部２４を塞ぐ部材を含む。開口部２４を塞ぐ部材は、孔付カバー４１とシート４２とを含む。孔付カバー４１は、開口部４３を有する板状部材であり、孔付カバー４１は、フォトニック結晶バイオセンサ１１の表面（反射面２９側）に設けられる。シート４２は、孔付カバー４１のフォトニック結晶バイオセンサ１１とは反対側（光の入射側）に設けられる。シート４２は、被覆部材として機能する。フォトニック結晶バイオセンサ１１は、孔付カバー４１とシート４２とにより開口部２４、４３が塞がれる。

[0087] 孔付カバー４１の開口部４３側の内壁と、開口部２４側の内壁と、フォトニック結晶２５の反射面２９とで囲まれた空間が、一定容積の液滴保持部４４となる。開口部４３側の内壁とは、孔付カバー４１と開口部４３との境界面である、孔付カバー４１の内壁をいう。開口部４３は、液滴保持部４４に標的物質が配置された後、シート４２により覆われる。これにより、液滴保持部４４はシート４２により塞がれる。

[0088] フォトニック結晶バイオセンサ１１は、孔付カバー４１及びシート４２を備えることで、フォトニック結晶バイオセンサ１１の開口部２４に滴下された溶液の蒸発を抑制することができる。このため、抗原抗体反応時の蒸発などによる溶液の濃度が変化するのを抑制することができる。また、フォトニック結晶バイオセンサ１１は、孔付カバー４１及びシート４２を備えることで、外部から溶液へ異物が混入することを防止することができる。

[0089] さらに、液滴保持部４４に溶液を充填することにより、溶液を充填した状態で反射光の測定をより正確に行うことも可能である。この場合、シート４２は透明な材料であることが好ましく、より好ましくは、反射光の強度の極

値における波長の光の吸収が少ないものが好ましい。例えば、シート 4 2 の材料は、可視光線領域から紫外線領域の反射光で測定する場合は石英（シリカ）などが好ましい。

[0090] （光検出部 1 2）

次に、図 1 に示す光検出部 1 2 について説明する。図 1 に示す光検出部 1 2 は、光源 5 1 と、測定プローブ 5 2 と、光検出装置 5 3 と、第 1 光ファイバー 5 4 と、第 2 光ファイバー 5 5 と、コリメートレンズ 5 6 とを含む。光源 5 1 と測定プローブ 5 2 とは、第 1 光ファイバー 5 4 により光学的に接続されている。測定プローブ 5 2 と光検出装置 5 3 とは、第 2 光ファイバー 5 5 により光学的に接続されている。必要に応じて、光源 5 1 及び光検出装置 5 3 などに接続され、光源 5 1 の制御及び光検出装置 5 3 からの信号を処理する制御装置を設けてもよい。

[0091] 図 2 3 は、光検出部 1 2 がフォトニック結晶バイオセンサ 1 1 に光を照射する例を示す図である。図 1 に示す第 1 光ファイバー 5 4 は、図 1 に示す光源 5 1 からの光を測定プローブ 5 2 に導き、測定プローブ 5 2 からフォトニック結晶バイオセンサ 1 1 が有する金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 へ照射する。コリメートレンズ 5 6 は、第 1 光ファイバー 5 4 から出射し、測定プローブ 5 2 から照射された光を平行光にしてから、フォトニック結晶 2 5 の反射面 2 9 へ入射光 L 1 として照射する。第 2 光ファイバー 5 5 は、金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 で反射した光を反射光 L R として受光し、図 1 に示す光検出装置 5 3 へ導く。コリメートレンズ 5 6 の種類は特に限定されないが、例えば、ナノストラクチャーを持つ反射防止フィルムを用いることができる。光検出装置 5 3 は、例えば、フォトランジスタまたは CCD (Charge Coupled Device) などの受光素子を備えた、光を検出するための装置である。

[0092] 図 2 4 は、図 1 に示す光検出部 1 2 が有する測定プローブ 5 2 の構造を示す図である。測定プローブ 5 2 は、第 1 光ファイバー 5 4 と第 2 光ファイバー 5 5 とが接合される。そして、測定プローブ 5 2 は、第 1 光ファイバー 5

4の光の出射面61と、第2光ファイバー55の反射光LRの入射面62とが同一の面（入出射面）63上に配置される。このように、測定プローブ52は、第1光ファイバー54と第2光ファイバー55とが、第1光ファイバー54の出射側（出射面61側）と第2光ファイバー55の入射側（入射面62側）とで一体となっている。そして、測定プローブ52は、第1光ファイバー54と第2光ファイバー55とを用いて光を入射し、反射光LRを検出する。

[0093] 測定プローブ52は、このような構造としているため、フォトニック結晶25の反射面29に照射する入射光L1と、反射面29からの反射光LRとをほぼ同一の位置から出射し、入射させることができる。測定プローブ52を上述したような構造にするとともに、コリメートレンズ56を用いて測定プローブ52からの光を平行光にすることで、光検出部12は、反射面29に平行光の入射光L1を垂直に入射することができる。それとともに、反射面29から垂直に反射した反射光LRを受光することができる。このようにすることで、測定プローブ52は、反射光強度の低下を最小限に抑えることができるとともに、主として反射光LRの0次光成分を検出することができる。これにより、処理部13は、金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29の正確な情報を得ることができるため、標的物質の検出精度及び濃度の計測精度が向上する。なお、反射光LRを検出する手法は、上述したような測定プローブ52に限定されない。例えば、コリメートレンズ56と反射面29との間にハーフミラーを配置し、ハーフミラーによって反射光LRを分離して第2光ファイバー55から光検出装置53に導いてもよい。

[0094] 次に、光検出部12の評価条件を説明する。図25は、第1の実施形態に係る標的物質検出装置10の光検出部12の評価条件を示す図である。図25に示すように、光検出部12は、測定プローブ52の入出射面63と金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29との間にコリメートレンズ56を配置する。コリメートレンズ56と反射面29との距離（計測距離）を h 、コリメートレンズ56から出射した平行光の反射面29における直径を d_1

、フォトニック結晶 25 の反射面 29 が露出する開口部 24 の直径を d_2 とする。本評価では、 h を 15 mm または 40 mm とし、 d_1 を 3.5 mm、 d_2 を 5 mm とした。反射面 29 に照射される光の光軸 Z_L 及び反射面 29 で反射された反射光の光軸 Z_L は、いずれも反射面 29 に対して直交している。測定プローブ 52 の直径は $200\ \mu\text{m}$ である。照射する光は白色光を用いた。反射率は、標準物質（アルミニウム板）の反射光強度に対する比率である。

[0095] （処理部 13）

次に、図 1 に示す処理部 13 について説明する。処理部 13 は、光検出部 12 が検出した反射光の極値の波長を求める。処理部 13 は、それとともに、求めた極値の波長のシフト（波長シフト量）に基づいて、少なくとも標的物質（例えば、図 15、図 16 などに示す抗原 36）の有無を検出する。処理部 13 は、例えば、マイクロコンピュータである。波長シフト量と金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に捕捉された標的物質の濃度とは相関がある。このため、処理部 13 は、波長シフト量から反射面 29 に捕捉された標的物質の濃度を求めることができる。

[0096] （標的物質を検出する方法）

次に、図 1 に示す標的物質検出装置 10 を用いて標的物質を検出する方法（標的物質検出方法）を説明する。この例においては、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 にコルチゾール抗体を吸着させて、唾液中のコルチゾールを検出対象の標的物質として、検出・測定する場合を説明する。フォトニック結晶 25 としては、熱ナノインプリントにより所定の微細構造を表面に形成したシクロオレフィン系ポリマーのシートを所定の大きさに切断したものを用いている。

[0097] 図 26 は、第 1 の実施形態に係る標的物質検出方法の一例を示すフローチャートである。まず、ステップ S11 では、光検出部 12 は、フォトニック結晶 25 の反射面 29 に光を照射したときの反射面 29 からの反射光 L_R を検出し、処理部 13 は、反射光 L_R を計測する（ステップ S11）。処理部

13は、例えば、反射光LRの反射光強度のスペクトルを計測する。反射面29に照射する光（入射光L1）の波長は、例えば300nm以上2000nm以下である。

[0098] 次に、ステップS12では、コルチゾール抗体溶液（コルチゾール抗体濃度 $1\mu\text{g}/\text{ml} \sim 50\mu\text{g}/\text{ml}$ ）を金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に滴下する。そして、所定の時間または必要であれば、フォトニック結晶バイオセンサ11を所定の温度で所定の時間静置し、コルチゾール抗体を金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に吸着させる。

[0099] 次に、ステップS13では、リン酸緩衝液（PBS：Phosphate buffered saline）を金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に滴下する。その後、遠心力などにより除去するリンス処理を複数回行う。

[0100] 次に、ステップS14では、ブロッキング剤35としてスキムミルクをフォトニック結晶25の反射面29に滴下し、フォトニック結晶バイオセンサ11を所定の時間または必要であれば所定の温度で所定の時間静置し、スキムミルクを金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29におけるコルチゾール抗体の非吸着部に吸着させる。

[0101] その後、ステップS15では、リンス処理（ステップS13）と同様に、リン酸緩衝液によりリンス処理を複数回行う。上述した操作により、金属膜被覆フォトニック結晶21の反射面29に所定の処理がなされ、フォトニック結晶バイオセンサ11が形成される。

[0102] 次に、ステップS16では、まず、コルチゾールを含む溶液としての唾液の準備をする。唾液のサンプリング及び不純物の除去などの前処理は、例えば、市販の唾液採取キットを用いて行う。唾液の準備は、フォトニック結晶バイオセンサ11に唾液を滴下する前であればいつ行ってもよい。例えば、フォトニック結晶バイオセンサ11を形成する前に行ってもよく、フォトニック結晶バイオセンサ11を形成するのと並行して行ってもよく、反射光強度を計測した後に行ってもよい。サンプリング及び前処理の終了した唾液10 $\mu\text{L} \sim 50\mu\text{L}$ をフォトニック結晶バイオセンサ11に滴下する。

- [0103] 次に、ステップS 1 7では、フォトニック結晶バイオセンサ 1 1を、所定の時間、また必要であれば所定の温度で所定の時間、静置して抗原抗体反応を行う。
- [0104] その後、ステップS 1 8では、リンス処理（ステップS 1 5）と同様に、リン酸緩衝液によりリンス処理を複数回行う。
- [0105] 次に、ステップS 1 9では、標的物質検出装置 1 0を用いて、金属膜被覆フォトニック結晶 2 1の反射面 2 9に光を照射する。このときに照射する光は、ステップS 1 1で反射面 2 9に照射した光と同一である。そして、標的物質検出装置 1 0は、反射面 2 9からの反射光 L R、例えば、反射光強度のスペクトルを計測する。
- [0106] フォトニック結晶バイオセンサ 1 1の反射光強度の極値における波長は、反射面 2 9または反射面 2 9の近傍での抗原抗体反応などにより影響を受けて変化する。このため、反応前後の反射光強度の極値における波長の差、すなわち波長シフト量から、唾液中のコルチゾールを検出できる。また、波長シフト量から唾液中のコルチゾールの濃度を求めることができる。
- [0107] ステップS 2 0では、処理部 1 3は、ステップS 1 9で計測した反射光強度（または反射率）の極値（極小値）における波長のシフト（波長シフト量）を求める。波長シフト量は、例えば、反射面 2 9に標的物質が捕捉された後における波長 λ_2 と、反射面 2 9に標的物質が捕捉されていないときにおける反射光強度（または反射率）の極値（最小値）に対応する波長 λ_1 との差分 $\lambda_2 - \lambda_1$ である。
- [0108] ステップS 2 1で、処理部 1 3は、例えば、所定量以上の波長シフト量がある場合、唾液中にコルチゾールが存在すると判定する。また、処理部 1 3は、波長シフト量に基づき、例えば、波長シフト量とコルチゾールの濃度との関係式を用いてコルチゾールの濃度を決定する。このとき、前記関係式は予め求めておき、処理部 1 3の記憶部に保存しておく。
- [0109] 上述した例では、標的物質が捕捉されていない状態の反射面 2 9における反射光強度の極値の波長を用いて波長シフト量を求めたが、これに限定され

るものではない。例えば、リンス処理（ステップS 1 3またはステップS 1 5）が終わった後における反射面2 9からの反射光強度の極値の波長を用いて波長シフト量を求めてもよい。また、ステップS 1 1、ステップS 1 9において、極値が複数ある場合には、着目する極値を適宜選定する。そして、選定された極値について、波長 λ 1及び波長 λ 2を求める。

[0110] なお、第1の実施形態では、金属膜被覆フォトニック結晶2 1は、反射面2 9に抗体3 4を固定しているが、これに限定されるものではなく、金属膜被覆フォトニック結晶2 1は、反射面2 9に抗体3 4を固定しないで用いてもよい。

[0111] [第2の実施形態]

第2の実施形態に係る標的物質捕捉装置を備えた標的物質検出装置について説明する。第2の実施形態に係る標的物質捕捉装置は、金属膜被覆フォトニック結晶2 1の反射面2 9に固定するものを抗原（標的物質）3 6とし、この抗原3 6に抗体3 4を吸着させることに変更したこと以外は第1の実施形態と同様であるため、重複した説明は省略する。

[0112] 図2 7～図3 1は、フォトニック結晶バイオセンサの原理を説明する図である。抗体3 4と、抗原3 6との特異的反応として、第2の実施形態では、抗原3 6としてコルチゾールと、抗体3 4として抗コルチゾール抗体とを用いて説明する。

[0113] まず、図2 7に示すように、フォトニック結晶バイオセンサ1 1は、金属膜被覆フォトニック結晶2 1の反射面2 9に抗原3 6を固定する手段として、抗体3 4を反射面2 9に固定する手段と同様に行うことができる。抗原3 6を反射面2 9に固定する手段としては、例えば、共有結合、化学吸着、物理吸着などの、化学的結合、物理的結合方法が挙げられる。これらの手段は、抗原3 6の性質に応じて適宜選択することができる。

[0114] 金属膜被覆フォトニック結晶2 1に固定される抗原3 6の量は、一定量である。これにより、金属膜被覆フォトニック結晶2 1に固定される抗原3 6に抗体3 4が吸着して複合体6 5（図2 9、図3 0参照）が形成された場合

に、形成された複合体 6 5 の量と相関する物理量を、フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 が出力できる。固定される抗原 3 6 の一定量は、適宜変更してもよく、例えば、試料 S に含まれる抗原 3 6 の量の範囲によって最適な量に設定することができる。

[0115] その後、図 2 8 に示すように、ブロッキング剤 3 5 を反射面 2 9 の抗原 3 6 の付着していない箇所に固定させる。

[0116] 次に、フォトニック結晶 2 5 の反射面 2 9 に、例えば 3 0 0 n m 以上 9 0 0 n m 以下の光（入射光）L 1 を平行光で、かつ光軸が反射面 2 9 と直交するように照射する。このときの反射光 L R の強度または反射率が極値（この例では極小値）となる波長を $\lambda 1$ とする。

[0117] 次に、図 2 9 に示すように、抗原 3 6 と抗体 3 4 との複合体 6 5 と、抗体 3 4 とを含む混合物 M を準備する。混合物 M は、抗原 3 6 を含む試料 S と既知量の抗体 3 4 を含む溶液とを混合することで得られる。複合体 6 5 は、抗原 3 6 を含む試料 S と既知量の抗体 3 4 を含む溶液とを混合することで、抗体 3 4 と抗原 3 6 とが反応して得られる。抗体 3 4 は、抗体 3 4 の既知量を試料 S に含まれる抗原 3 6 の結合する部位の量よりも多くすることにより、混合物 M 中に抗原 3 6 と反応せずに残ったものである。混合物 M を、金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 に接触させる。これにより、図 3 0 に示すように、反射面 2 9 に固定された抗原 3 6 と抗体 3 4 とで複合体 6 5 を反射面 2 9 に形成させる。その後、図 3 1 に示すように、金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 に、例えば 3 0 0 n m 以上 2 0 0 0 n m 以下の光（入射光）L 1 を平行光で、かつ光軸が反射面 2 9 と直交するように照射する。このときの、反射光 L R の反射光強度または反射率が極値（この例では極小値）となる波長を $\lambda 2$ とする。

[0118] 光の反射率が極値となる波長の波長シフト量は、 $\lambda 2 - \lambda 1$ である。金属膜被覆フォトニック結晶 2 1 の反射面 2 9 における表面状態の変化に応じて、波長シフト量は変化する。この波長シフト量に基づいて、抗原 3 6 の検出及び定量を行う。フォトニック結晶バイオセンサ 1 1 は、光学的な物理量を

出力する。この物理量は、反射面 29 における表面状態の変化に相関し、反射面 29 に固定された抗原 36 と抗体 34 とで形成される複合体 65 の量と相関する。

[0119] 第 2 の実施形態は、金属膜被覆フォトニック結晶 21 に抗原 36 であるコルチゾールを固定させて、抗体 34 である抗コルチゾール抗体を反応させている。上記第 1 の実施形態のように、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に抗体 34 を固定させた後、抗体 34 に抗原 36 を反応させる場合と比較して、第 2 の実施形態のように、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 にコルチゾールを固定させた後、コルチゾールに抗コルチゾール抗体を反応させる場合の方が、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の表面状態の変化が大きくなり、フォトニック結晶バイオセンサ 11 の感度が向上する。

[0120] 次に、抗原 36 の濃度の測定方法を説明する。試料 S に含まれる抗原 36 の結合する部位の量を X 、混合物 M 中の抗体 34 の既知量を C とする。このとき、 X と C との関係は、 X を C よりも少なくする ($X < C$)。混合物 M 中において、抗原 36 と抗体 34 とが抗原抗体反応して、複合体 65 が形成される。 X は C よりも少ない ($X < C$) ので、混合物 M 中の抗体 34 の量は、 $C - X$ となる。そして、混合物 M を、一定量の抗原 36 が固定された反射面 29 に接触させると、混合物 M 中の抗体 34 が反射面 29 の抗原 36 と抗原抗体反応して、複合体 65 が形成される。反射面 29 に固定されている抗原 36 の量は、混合物 M 中の抗体 34 の量 $C - X$ 以上である。

[0121] 混合物 M 中のすべての抗体 34 が反射面 29 の抗原 36 と抗原抗体反応すると、複合体 65 の量は $C - X$ になる。混合物 M を反射面 29 に接触させる前後において計測した波長 λ_1 、 λ_2 から求めた波長シフト量 $\Delta\lambda$ は、反射面 29 に固定された複合体 65 の量に相当する。したがって、 $\Delta\lambda = k \times (C - X)$ となる。 k は、波長シフト量 $\Delta\lambda$ を複合体 65 の量に変換するための定数である。反射面 29 に固定された複合体 65 の量と波長シフト量 $\Delta\lambda$ との関係は、予め求めておく。上記関係式から、抗原 36 の量 X は、 $C - \Delta$

λ/k で求めることができる。抗原 36 の濃度は、抗原 36 の量 X に基づいて求めることができる。

[0122] また、第 2 の実施形態では、フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、例えば、複合体 65 と特異的に反応する二次抗体を、複合体結合物質として、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に固定された複合体 65 と反応させるようにしてもよい。二次抗体は第 1 複合体 65 よりも過剰な量を、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の反射面 29 に接触させる。そして、全ての複合体 65 に二次抗体を付加させて第二複合体とする。このようにすることで、金属膜被覆フォトニック結晶 21 の表面状態の変化が更に大きくなる。この結果、フォトニック結晶バイオセンサ 11 の感度が更に上昇する。二次抗体は、そのまま使用することもできるし、他の物質を付加して使用してもよい。二次抗体が大きいほど金属膜被覆フォトニック結晶 21 の表面状態の変化が大きくなるため、二次抗体に他の物質を付加した後、複合体 65 と反応させることで、フォトニック結晶バイオセンサ 11 の感度が更に大きくなる。

[0123] 反射面 29 に、第二複合体を形成させる場合は、第二複合体を形成させた後の反射面 29 に光を照射する。その結果得られる反射光強度または反射率が極値（この例では極小値）となる波長を λ_2 とする。極値が複数ある場合には、着目する極値を適宜選定する。選定された任意の極値について、波長 λ_1 及び波長 λ_2 を求める。フォトニック結晶バイオセンサ 11 は、光学的な物理量を出力する。この物理量は、反射面 29 における表面状態の変化に相関し、反射面 29 に固定された第 2 複合体の量と相関する。これにより、第 2 複合体を検出及び定量する。第 2 複合体の量は、複合体 65 の量と同一であるから、複合体 65 を定量することができる。

[0124] [第 3 の実施形態]

図 33 は、第 3 の実施形態に係る金属膜被覆フォトニック結晶を反射面に対して直交する平面で切った断面図である。図 33 に示すように、第 3 の実施形態において、非平坦部 28A c、28B c は、表面 27 に対して窪んだ

円錐状の凹部である。これにより、金型および樹脂を用いて熱ナノインプリントにより金属膜被覆フォトニック結晶 21 を作製するとき、金型が樹脂から離型しやすくなる。このため、非平坦部 28Ac、28Bc は、上述した第 1 の実施形態の円柱状の凹部である非平坦部 28A、28B と比較して、容易に形成することができる。したがって、第 3 の実施形態に係る金属膜被覆フォトニック結晶 21 は、容易に作製することができる。

[0125] なお、上記の説明において、第 3 の実施形態に係る非平坦部は、図 33 で示したような凹部であるとしたが、凸部であってもよい。このとき非平坦部 28Ac、28Bc は、表面 27 に対して突出した円錐状の凸部である。

[0126] また、非平坦部 28Ac、28Bc の反射面 29 に沿った断面形状は円形であってもよいし、図 32 (a) に示すような正六角形または図 32 (b) に示すような星形であってもよい。非平坦部 28Ac、28Bc の反射面 29 に沿った断面形状が正六角形である場合、非平坦部 28Ac、28Bc は、表面 27 に対して窪んだ六角錐状の凹部である。非平坦部 28Ac、28Bc の反射面 29 に沿った断面形状が星形である場合、非平坦部 28Ac、28Bc は、表面 27 に対して窪んだ底面が星形である角錐状の凹部である。

[0127] 次に、フォトニック結晶バイオセンサ 11 の感度の評価指標について具体的に説明する。表面にナノメートルオーダーの周期性を持つ凹凸形状（以下、「ナノ周期構造」）を用いたフォトニック結晶基板に光を照射すると、表面プラズモン共鳴現象が発生し、反射光のスペクトルはその材料及び構造に依存したピーク波長 λ_{peak} を示す。そのピーク波長 λ_{peak} は、周期を d 、金属の誘電率を ϵ_m 、環境の屈折率を n 、回折次数を i 、 j とすると、次式のように表される。

[0128] [数1]

$$\lambda_{\text{peak}} = \frac{\sqrt{3}d}{2(i^2 + j^2 - ij)^{1/2}} \left[\frac{\epsilon_m n^2}{\epsilon_m + n^2} \right]^{1/2}$$

[0129] 金属の材質とナノ周期構造の周期が一定であるとする、環境の屈折率変化 Δn に対するピーク波長シフト $\Delta \lambda_{\text{peak}}$ で定義される感度 S (nm/RIU) は、(数1) を環境の屈折率 n で微分することにより求めることができ、(数2) のように表され、感度 S は周期 d (nm) に比例することがわかる。

[0130] [数2]

$$S = \frac{\Delta \lambda_{\text{peak}}}{\Delta n} = \frac{d\lambda_{\text{peak}}}{dn} = \frac{\sqrt{3}d}{2(i^2 + j^2 - ij)^{1/2}} \left[\frac{\epsilon_m}{\epsilon_m + n^2} \right]^{3/2}$$

[0131] 感度 S は、用いるピーク波長または周期とともに増大し、スペクトル形状の半値幅 (Full Wavelength at Half Maximum:FWHM 単位 nm) も用いるピーク波長とともに増大することから、感度の評価指標として感度性能指数 FOM1 が用いられる (非特許文献2)。

[0132] [数3]

$$\text{FOM1} = \frac{S}{\text{FWHM}}$$

[0133] また、精度良くピーク波長を特定するためには鋭いピーク形状が望ましい。そのため、スペクトルの高さ (Full Height:FH) を半値幅で除した感度性能指数 FOM2 が用いられる (非特許文献2)。

[0134] [数4]

$$\text{FOM2} = \frac{\text{FH}}{\text{FWHM}} \times 1000$$

[0135] 高い FOM1 及び FOM2 の値を持つセンサ基板は、高い S/N 比を保有する高感度センサ基板といえる。一般的にバイオセンサにおいては、センサ表面に入射した光の反射光のスペクトルにおいて極値を示す波長は、センサ表面のナノ周期構造に係る凹凸が形成する格子模様の周期に依存する。したがって、反射光に含まれる特定の長さの波長を検出するためには、反射面の格子模様の周期は所望の値にできることが望ましい。

[0136] 一方、センサ感度を高めるためには、前述の凹凸を密に配置することが有

効であるが、単純に凹凸を密に配置すると反射面の格子模様の周期が小さくなるため、当該波長の測定が困難になるという問題があった。この問題に対して、従来は凹凸構造として断面が円形の凹部を形成した上で、凹部の周期を大きくすることで感度 S を向上させることのみに着目した対策がなされてきたものが多く、反射光のスペクトル形状を考慮したものは少ない。

[0137] 例えば、特許文献1には、凹凸構造として円柱状の凸部を一様な四角格子状に配列した、すなわち一つの回転対称性を持つ配置とした反射面を有するバイオセンサが記載されている。このようなセンサでは、測定対象とする波長に合わせて格子間隔が決定されるため、格子間隔が比較的大きい場合、凸部が疎な配置となり $FOM2$ の値が低下する。

[0138] 一方、凹凸の配置を、大きな周期の格子模様と小さな周期の格子模様を混在させた配置、すなわち複数の回転対称性を含む配置とした場合、反射光のスペクトルに複数の極値が生じる。この場合、複数ある極値のうちのいずれかの極値を用いて測定を行うことができれば、センサとして適正な出力を得られることから、高い信頼性を持って標的物質の有無を検出できるセンサが得られる。その反面、個々の極値が小さくなるので標的物質の量を正確に測定することが困難となる虞がある。以下において、上述した実施形態に係るフォトニック結晶バイオセンサが、標的物質の量を正確に測定できることを説明する。

[0139] 図34は、第1実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。図35は、第1比較例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。図34、35は、フォトニック結晶バイオセンサに対して照射された光の反射光のスペクトルにおけるピーク波長を、300秒間継続して測定した結果を示している。第1実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサは、上述した第1の実施形態で示したフォトニック結晶バイオセンサ11である。すなわち、第1実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサは、表面27に対して窪んだ円柱状

の凹部である非平坦部 28 B と、格子模様 L a を形成するように配置された単位配列 U と、を備える。第 1 実施例に係る非平坦部 28 B において、図 4 で示した直径 D 2 は 150 nm であり、深さ H 2 は 200 nm である。第 1 実施例に対して第 1 比較例は、図 5 で示したように格子模様 L a の交点の位置に中心 G 1 が 1 つずつ重なるように非平坦部 28 B が配置されている点異なる。

[0140] 図 3 4 に示すように、第 1 実施例におけるピーク波長は、300 秒間で一定となっている。これに対して、図 3 5 に示すように、第 1 比較例におけるピーク波長は、300 秒間で複数回変動している。すなわち、第 1 比較例においては、ノイズが発生しやすくなっている。第 1 実施例は、第 1 比較例に比較して、反射光のスペクトル形状の半値幅が小さいため、ピーク波長の測定結果が安定している。また、第 1 実施例において、FOM1 の値は 43.7 であり、FOM2 の値は 68.6 である。第 1 比較例において、FOM1 の値は 42.0 であり、FOM2 の値は 59.8 である。第 1 実施例の FOM1 および FOM2 は、ともに第 1 比較例の FOM1 および FOM2 よりも高い。これにより、第 1 実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサは、第 1 比較例に係るフォトニック結晶バイオセンサに比較して、センサとしての感度が高いことがわかる。したがって、第 1 の実施形態に係るフォトニック結晶バイオセンサ 11 は、従来技術に比較してセンサ感度を高めることができるので、標的物質の量を正確に測定できる。

[0141] 図 3 6 は、第 2 実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。図 3 7 は、第 2 比較例に係るフォトニック結晶バイオセンサに対して光を照射したときの、反射光のスペクトルのピーク波長を示す図である。図 3 6、3 7 は、フォトニック結晶バイオセンサに対して照射された光の反射光のスペクトルにおけるピーク波長を、300 秒間継続して測定した結果を示している。第 2 実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサは、上述した第 3 の実施形態で示したフォトニック結晶バイオセンサ 11 である。すなわち、第 2 実施

例に係るフォトニック結晶バイオセンサは、表面 27 に対して窪んだ円錐状の凹部である非平坦部 28 B c と、格子模様 L a を形成するように配置された単位配列 U と、を備える。第 2 実施例に係る非平坦部 28 B c において、図 33 で示した直径 D 2 は 220 nm であり、深さ H 2 は 50 nm である。第 2 実施例に対して第 2 比較例は、図 5 で示したように格子模様 L a の交点の位置に中心 G 1 が 1 つずつ重なるように非平坦部 28 B が配置されている点異なる。

[0142] 図 36 に示すように、第 2 実施例におけるピーク波長は、300 秒間で一定となっている。これに対して、図 37 に示すように、第 2 比較例におけるピーク波長は、300 秒間で複数回変動している。すなわち、第 2 比較例においては、ノイズが発生しやすくなっている。第 2 実施例は、第 2 比較例に比較して、反射光のスペクトル形状の半値幅が小さいため、ピーク波長の測定結果が安定している。また、第 2 実施例において、FOM1 の値は 54.4 であり、FOM2 の値は 65.9 である。第 2 比較例において、FOM1 の値は 42.0 であり、FOM2 の値は 32.5 である。第 2 実施例の FOM1 および FOM2 は、ともに第 2 比較例の FOM1 および FOM2 よりも高い。これにより、第 2 実施例に係るフォトニック結晶バイオセンサは、第 2 比較例に係るフォトニック結晶バイオセンサに比較して、センサとしての感度が高いことがわかる。したがって、第 3 の実施形態に係るフォトニック結晶バイオセンサ 11 は、従来技術に比較してセンサ感度を高めることができるので、標的物質の量を正確に測定できる。また、第 3 の実施形態に係るフォトニック結晶バイオセンサ 11 は、容易に作製することができる。

符号の説明

- [0143]
- 10 標的物質検出装置
 - 11 フォトニック結晶バイオセンサ（標的物質捕捉装置）
 - 12 光検出部
 - 13 処理部
 - 21 金属膜被覆フォトニック結晶

- 2 2 上部プレート
- 2 3 下部プレート
- 2 4、4 3 開口部
- 2 5 フォトニック結晶
- 2 6 金属膜
- 2 7 表面
- 2 8 A、2 8 B 非平坦部
- 2 9 反射面
- 3 4 抗体（標的物質捕捉物質）
- 3 5 ブロッキング剤（保護物質）
- 3 6 抗原（標的物質）
- 3 7、6 5 複合体
- 3 8、4 4 液滴保持部
- 3 9 マグネットシート
- 4 1 孔付カバー
- 4 2 シート
- 5 1 光源
- 5 2 測定プローブ
- 5 3 光検出装置
- 5 4 第1光ファイバー
- 5 5 第2光ファイバー
- 5 6 コリメートレンズ
- 6 1 出射面
- 6 2 入射面
- 6 3 同一の面（入出射面）
- M 混合物
- U 単位配列
- L 1 入射光

L R 反射光

請求の範囲

- [請求項1] 複数の非平坦部が配列され、標的物質を捕捉し、照射された光を反射する反射面を含む標的物質捕捉装置であって、
- 2以上の自然数をMとし、Mとは異なる2以上の自然数をNとしたとき、
- 前記複数の非平坦部が並べられた配列は、前記非平坦部がM回対称である図形における頂点の位置に、前記非平坦部の中心を1つずつ重ねるように配置された単位配列を複数含み、複数の前記単位配列がN回対称である格子模様の交点の位置に、前記M回対称である図形の重心を1つずつ重ねるように配置される
- ことを特徴とする標的物質捕捉装置。
- [請求項2] 1つの前記単位配列における前記非平坦部の中心間の最小距離は、前記格子模様の交点間の最小距離の0.4倍以上0.6倍以下であることを特徴とする請求項1に記載の標的物質捕捉装置。
- [請求項3] すべての前記非平坦部は、いずれかの前記単位配列に属しており、
- 1つの前記単位配列に属する前記非平坦部は、隣り合う前記単位配列に属する前記非平坦部と異なることを特徴とする請求項1または2に記載の標的物質捕捉装置。
- [請求項4] 前記Mは3であり、前記Nは6であることを特徴とする請求項1から3のいずれか1項に記載の標的物質捕捉装置。
- [請求項5] 1つの前記単位配列における前記非平坦部の中心間の最小距離は、前記格子模様の交点間の最小距離の0.5倍であることを特徴とする請求項1から4のいずれか1項に記載の標的物質捕捉装置。
- [請求項6] 照射された光を反射する反射面を含み、反射面に複数の非平坦部が一定の規則に従って配列されたフォトリソグラフィを用いたバイオセンサによって標的物質を捕捉する標的物質捕捉装置であって、前記複数の非平坦部が並べられた配列は、前記非平坦部が正三角形の頂点の位置に、前記非平坦部の中心を1つずつ重ねるように配置された単位配

列を複数含み、前記複数の非平坦部が並べられた配列は、 60° の角度でお互いに交差する格子模様の交点の位置に、前記正三角形の重心を1つずつ重ねるように複数の単位配列が配置されていることを特徴とする標的物質捕捉装置。

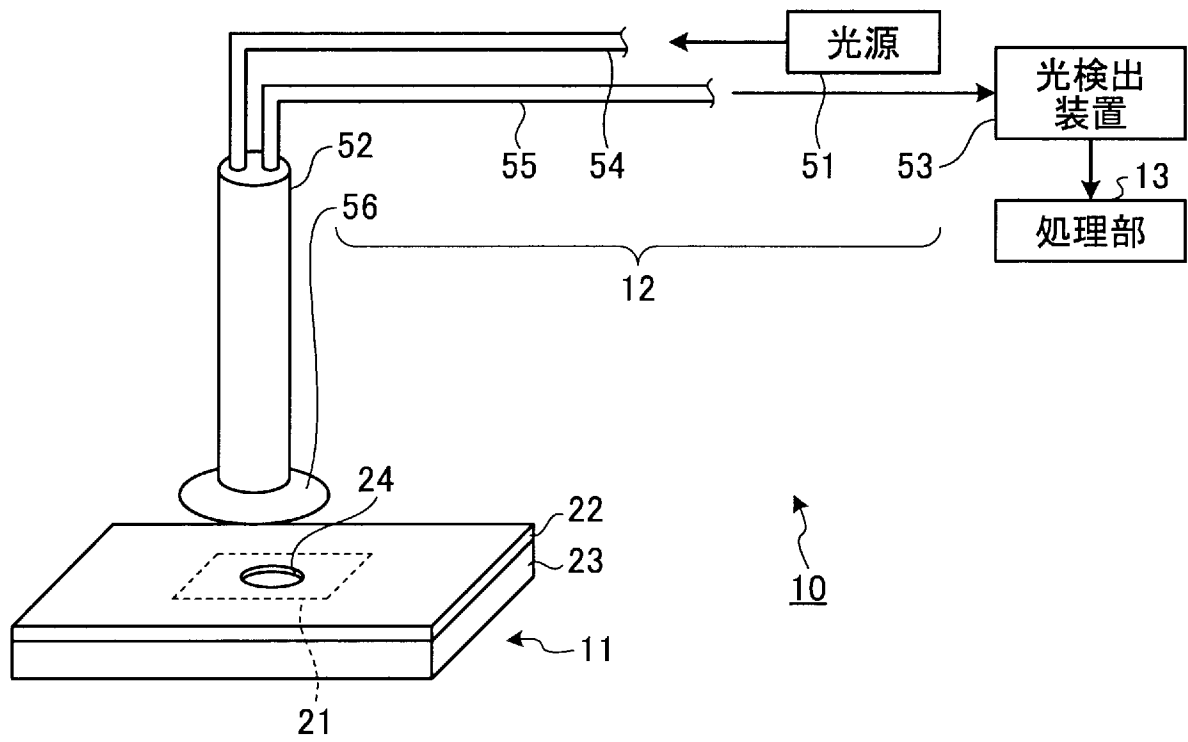
[請求項7] 前記非平坦部の前記反射面に沿った断面が円形であって、前記非平坦部の断面の直径が前記正三角形の一辺の長さの1倍未満であることを特徴とする請求項6に記載の標的物質捕捉装置。

[請求項8] 前記正三角形の一辺の長さは、前記格子模様の交点間の最小距離の0.5倍であり、

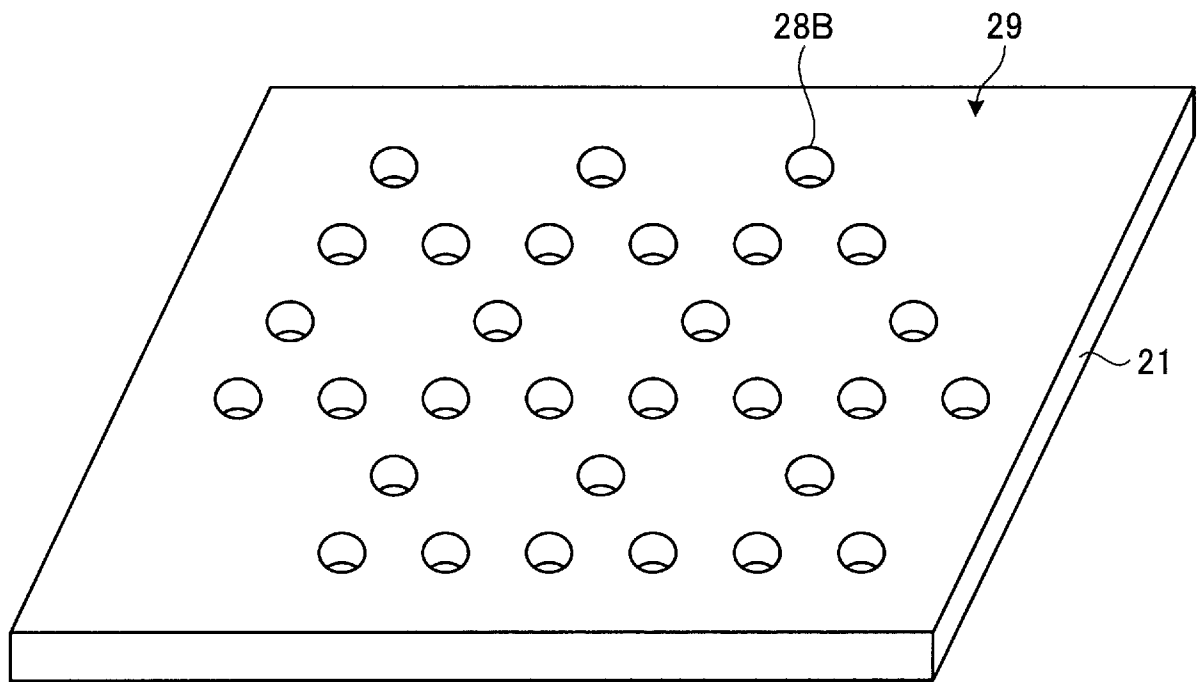
前記正三角形の一辺は、前記格子模様が含む直線に平行であることを特徴とする請求項6または7に記載の標的物質捕捉装置。

[請求項9] 前記非平坦部の前記反射面に沿った断面が正六角形もしくは星型であることを特徴とする請求項1から6のいずれか1項に記載の標的物質捕捉装置。

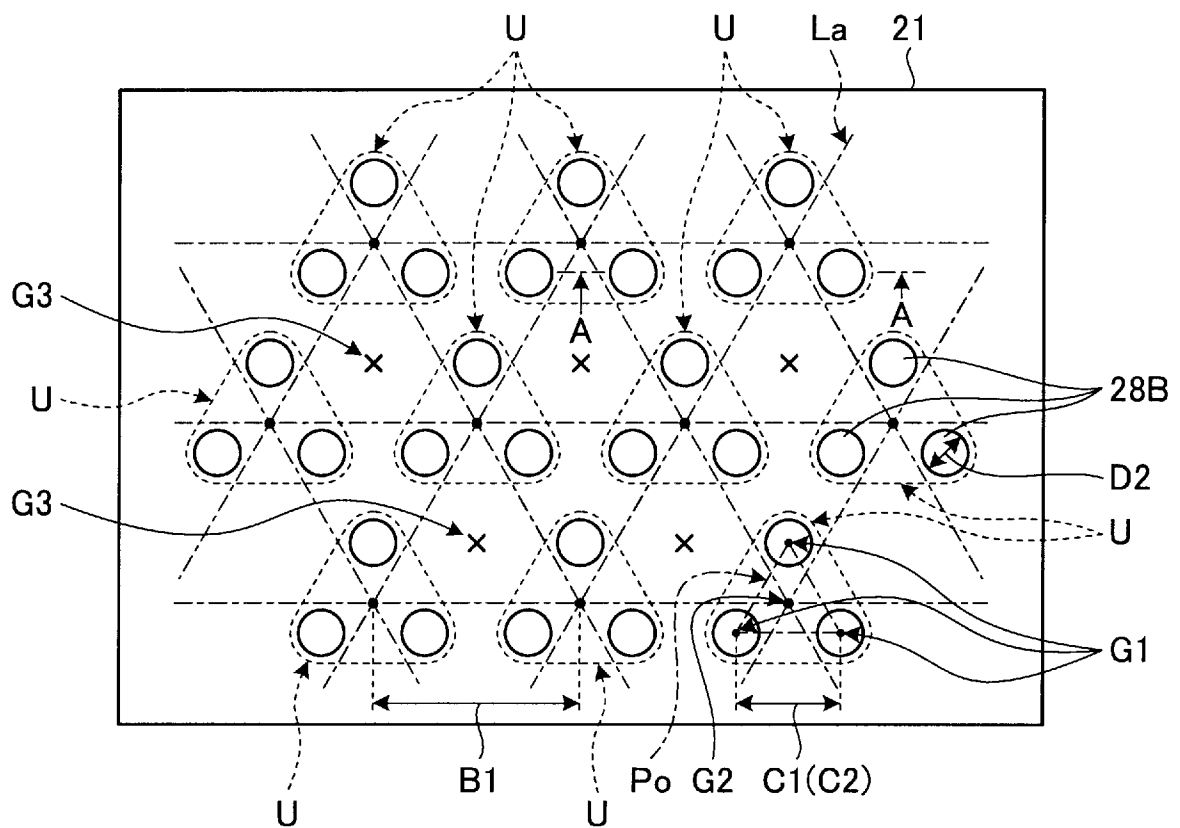
[図1]



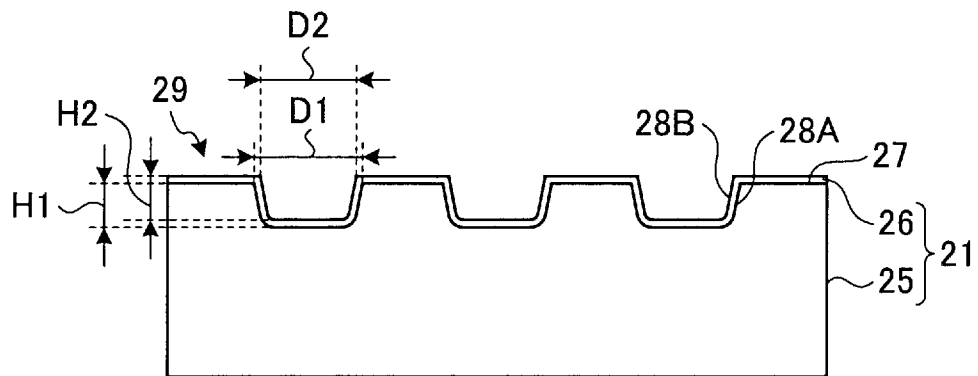
[図2]



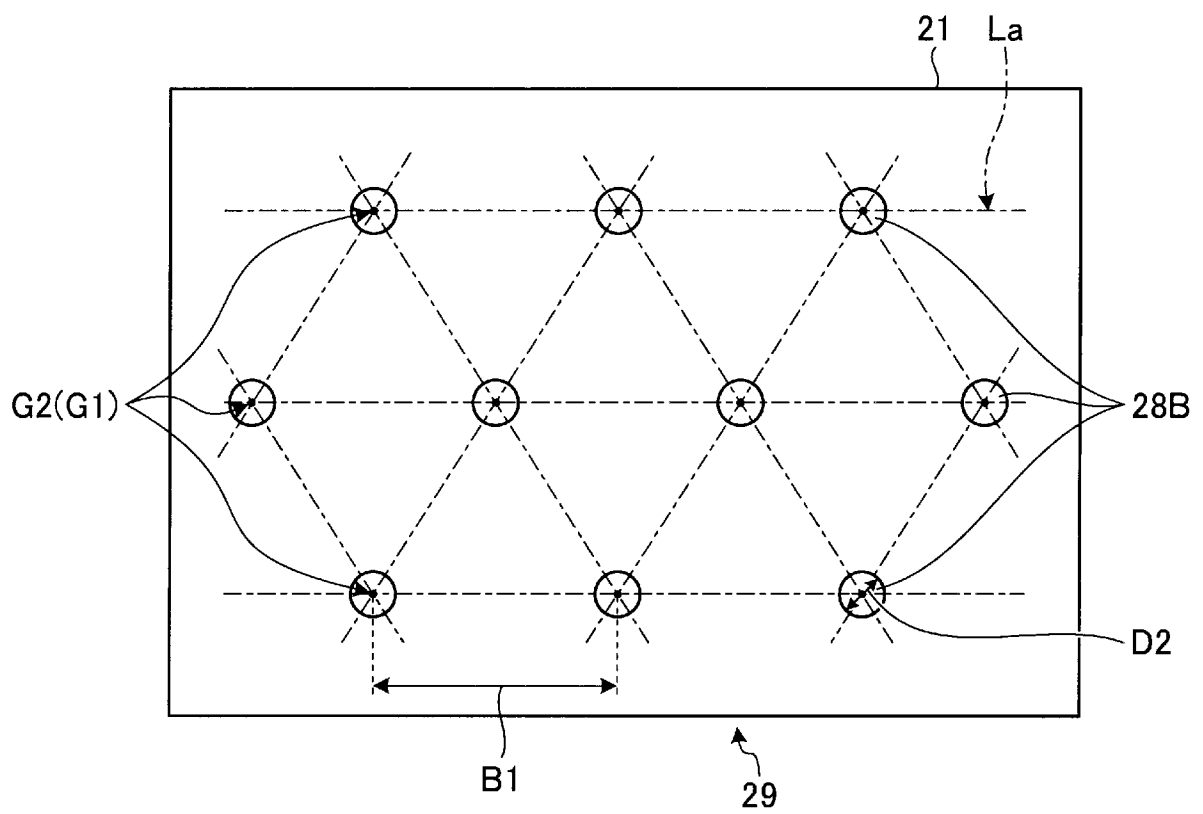
[図3]



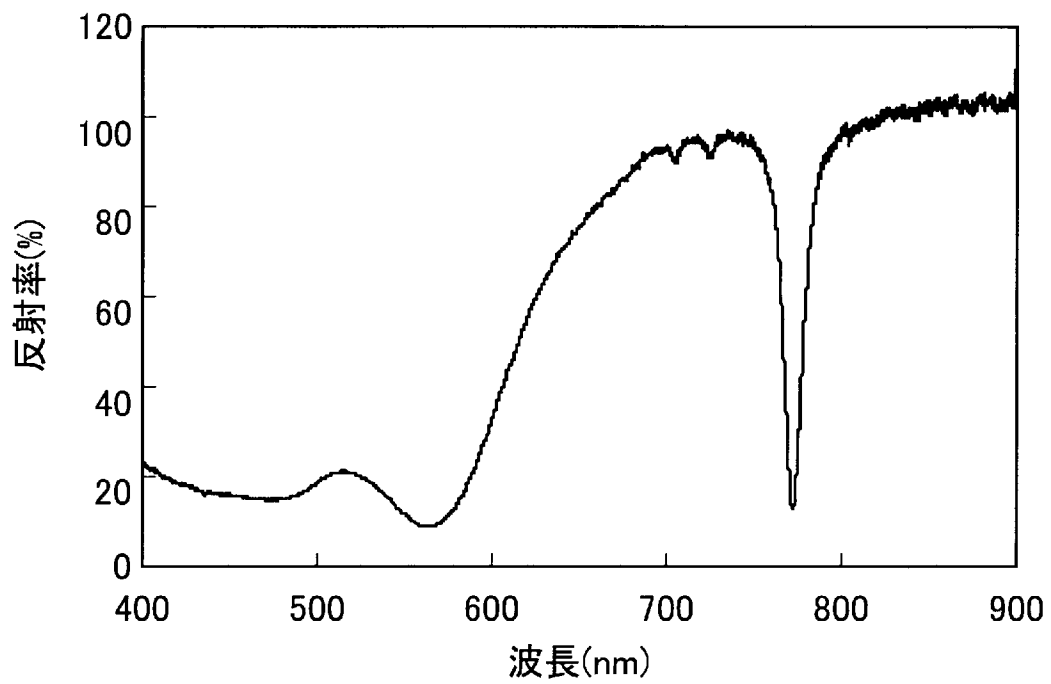
[図4]



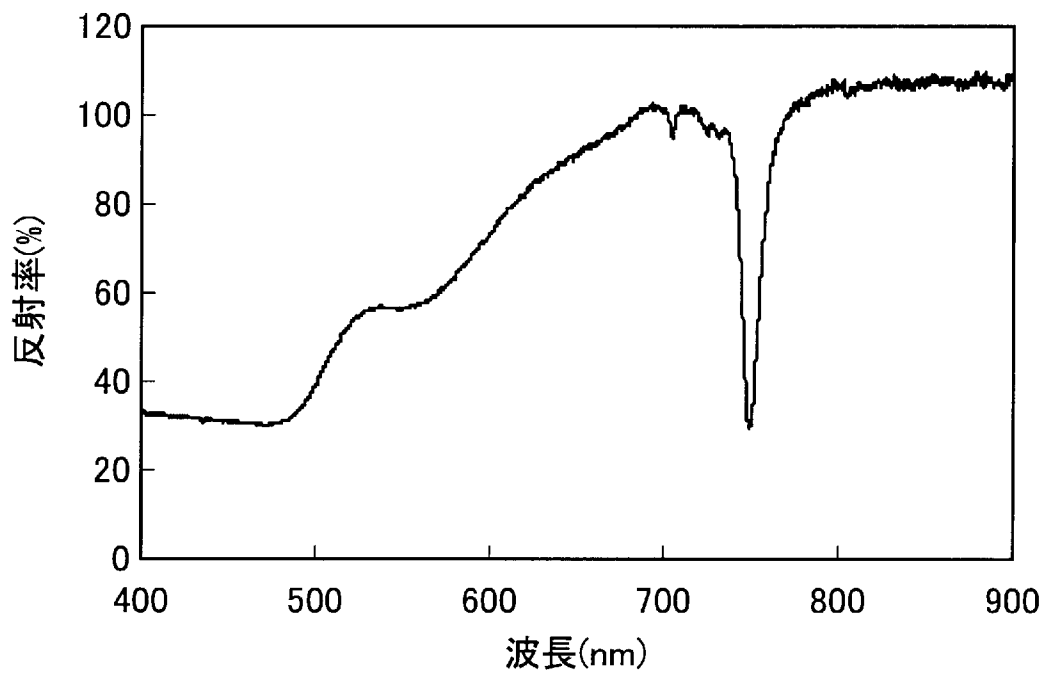
[図5]



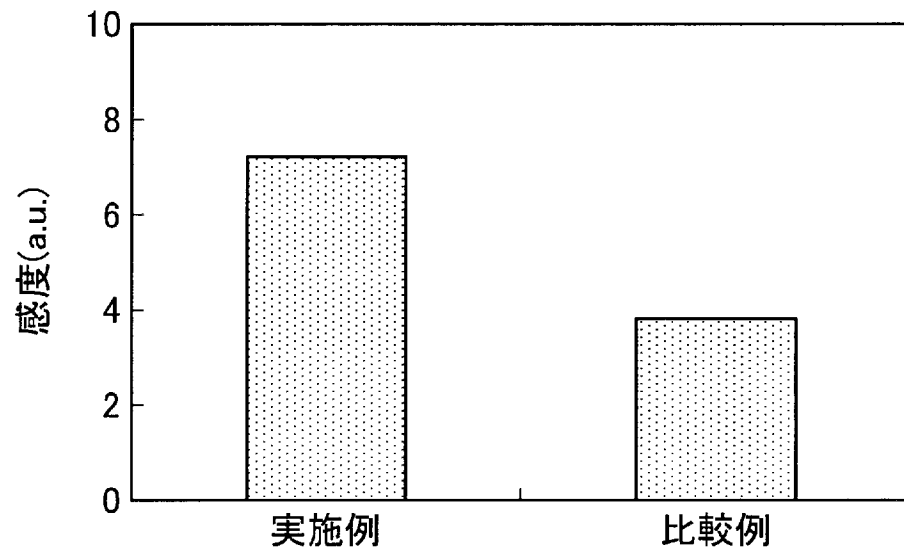
[図6]



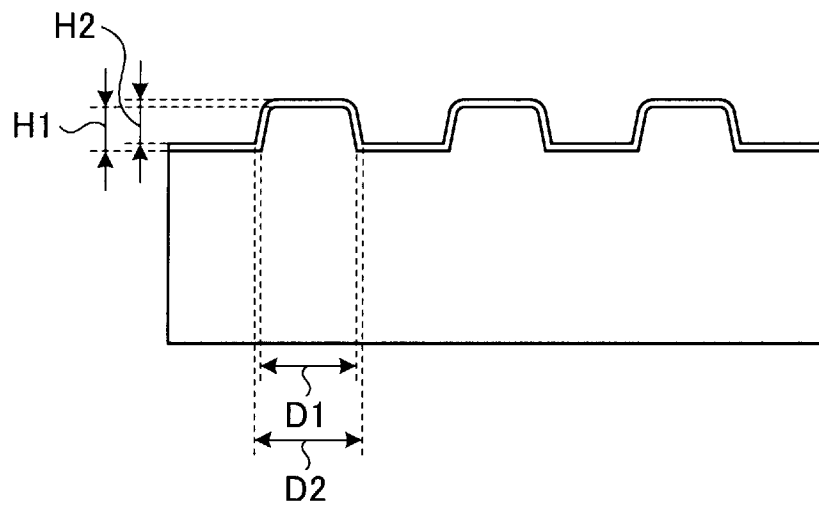
[図7]



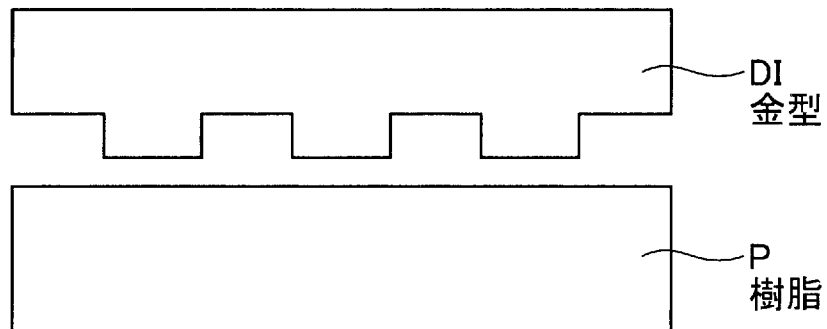
[図8]



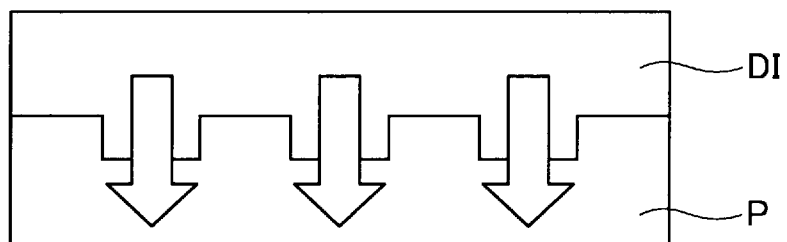
[図9]



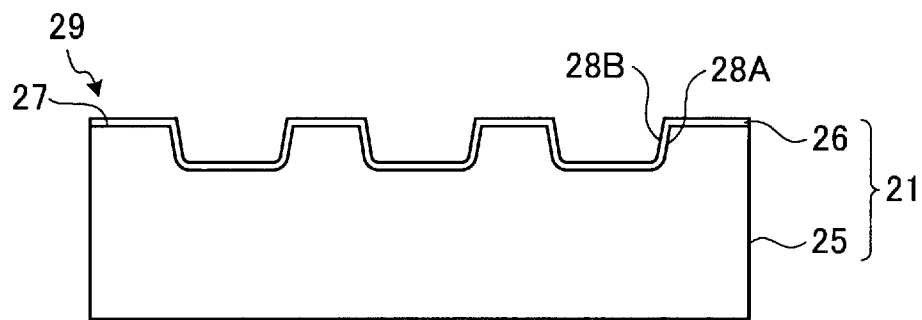
[図10]



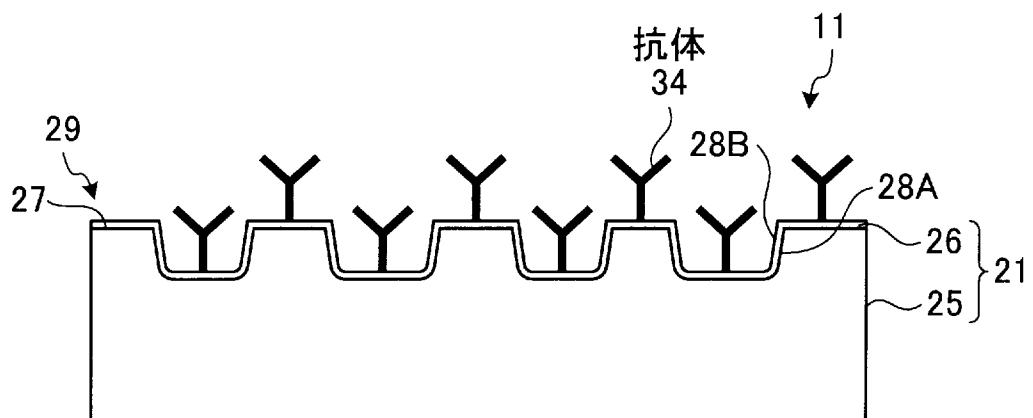
[図11]



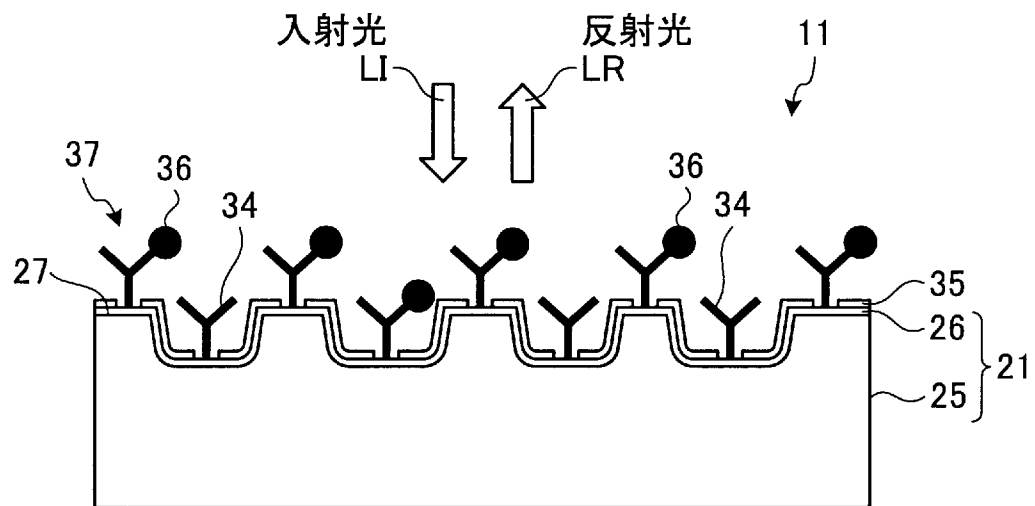
[図12]



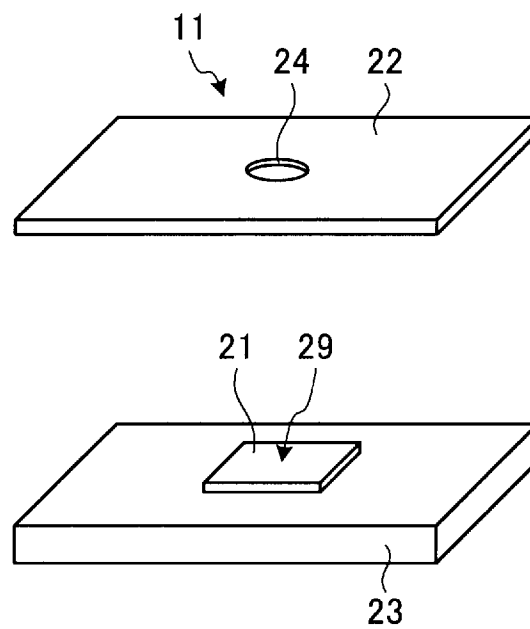
[図13]



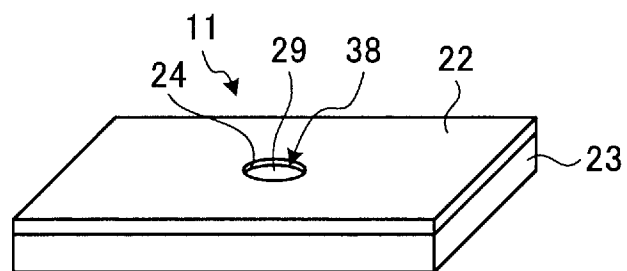
[図16]



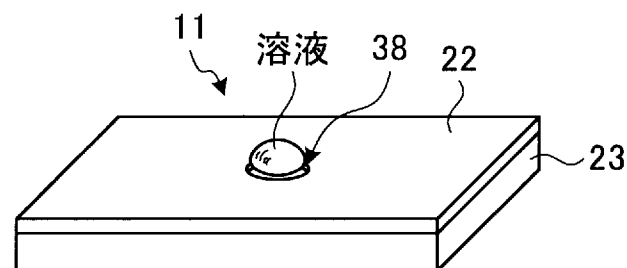
[図17]



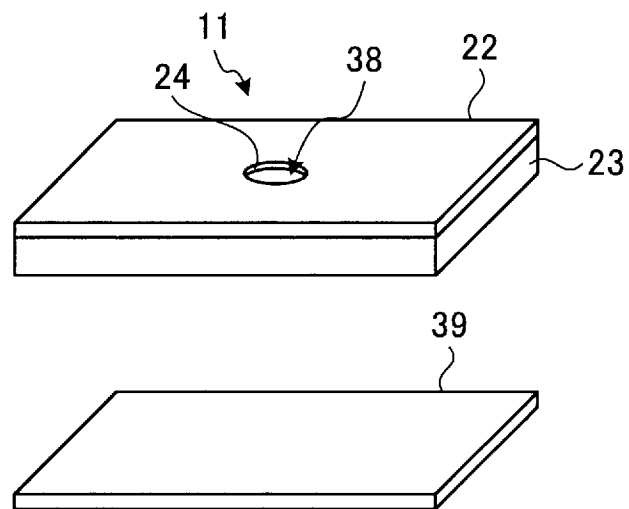
[図18]



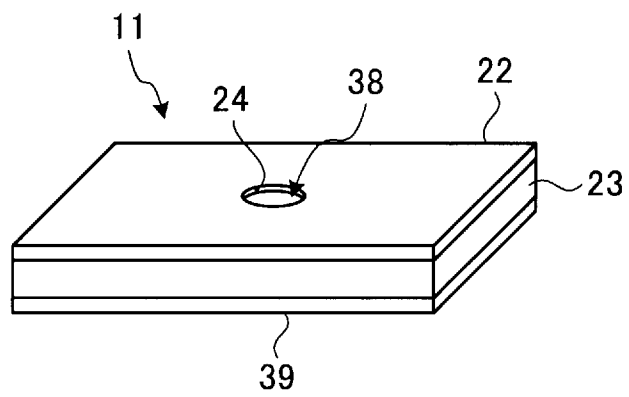
[図19]



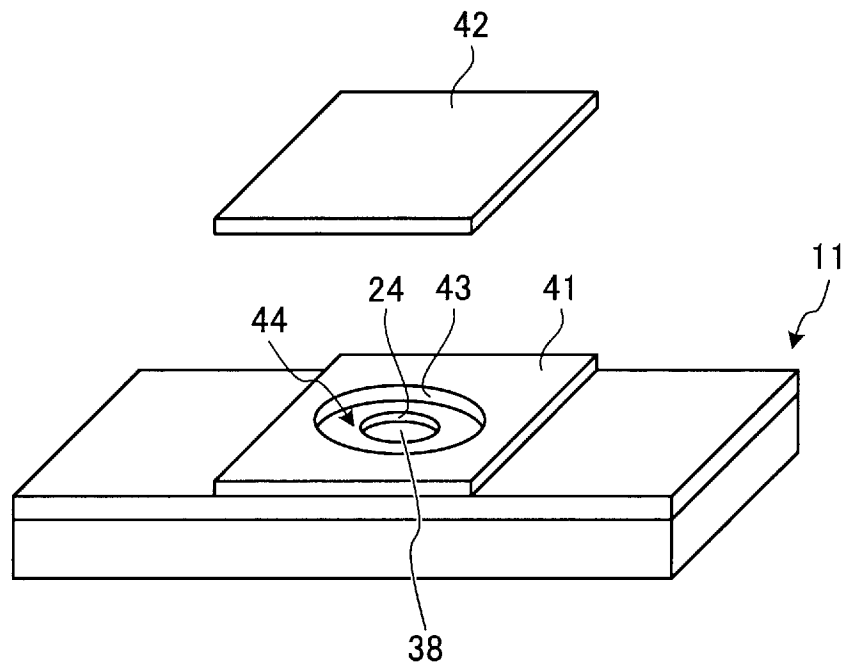
[図20]



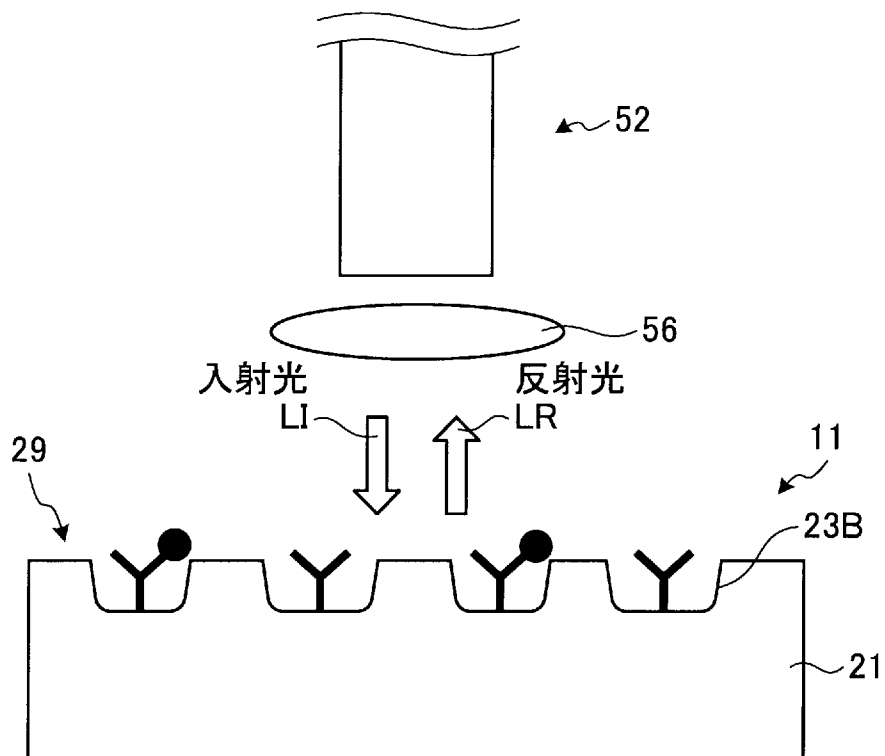
[図21]



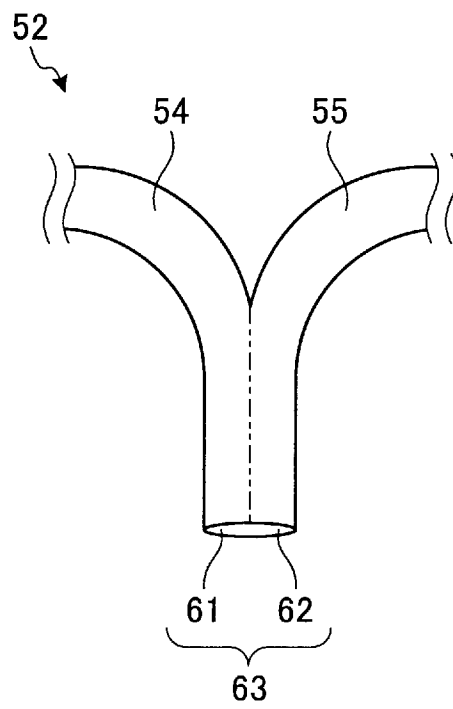
[図22]



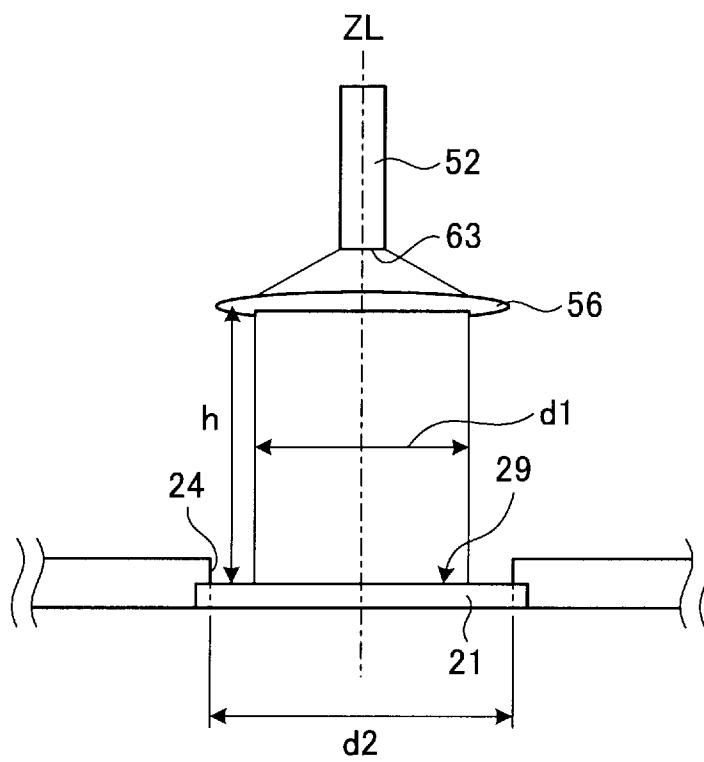
[図23]



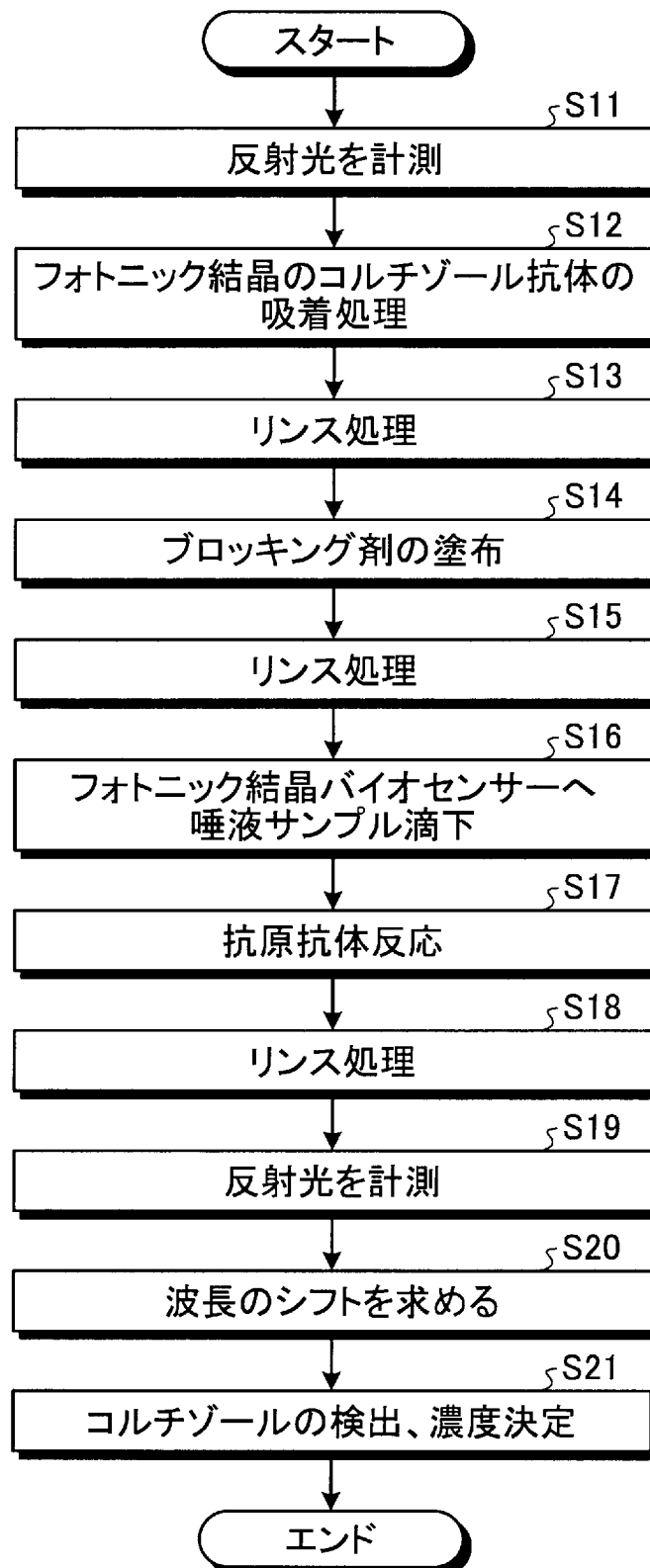
[図24]



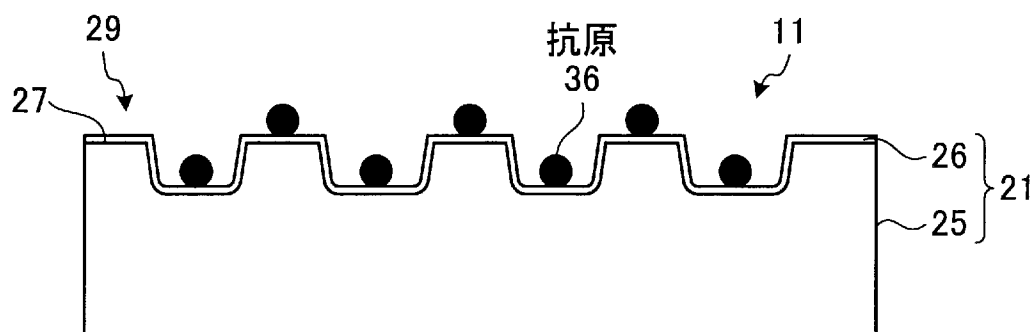
[図25]



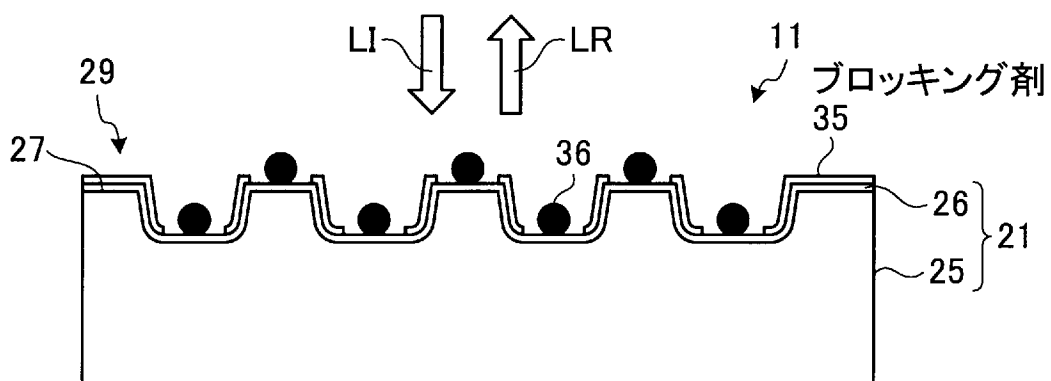
[図26]



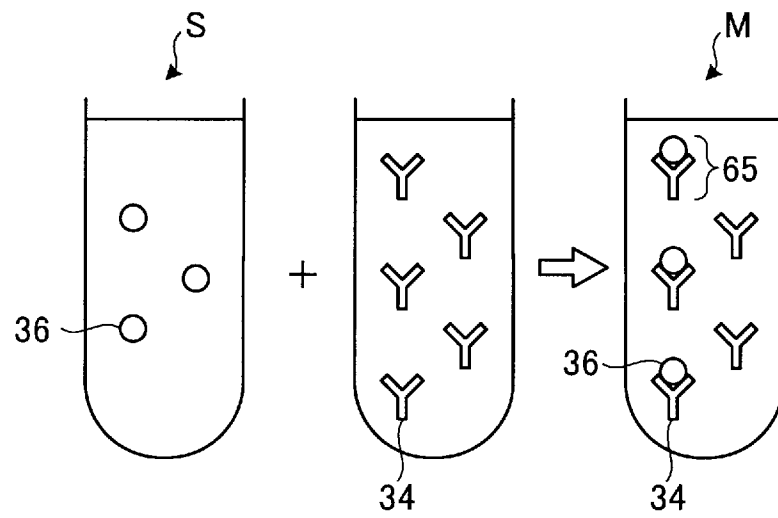
[図27]



[図28]



[図29]



[図30]

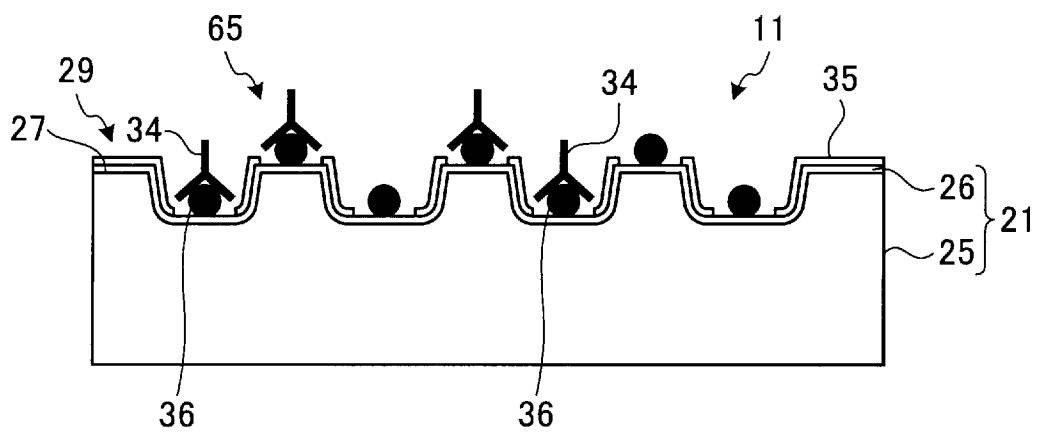
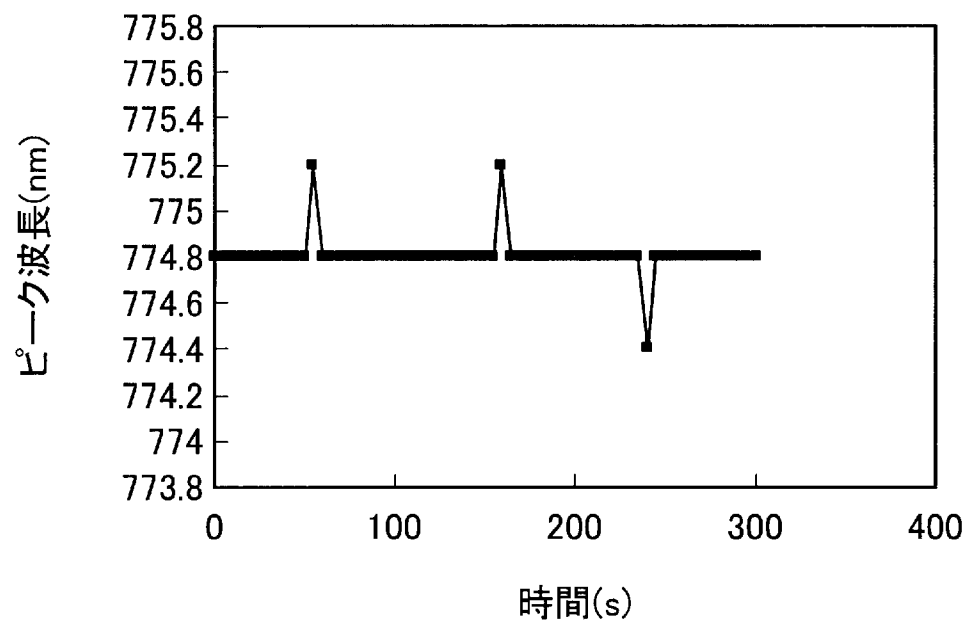


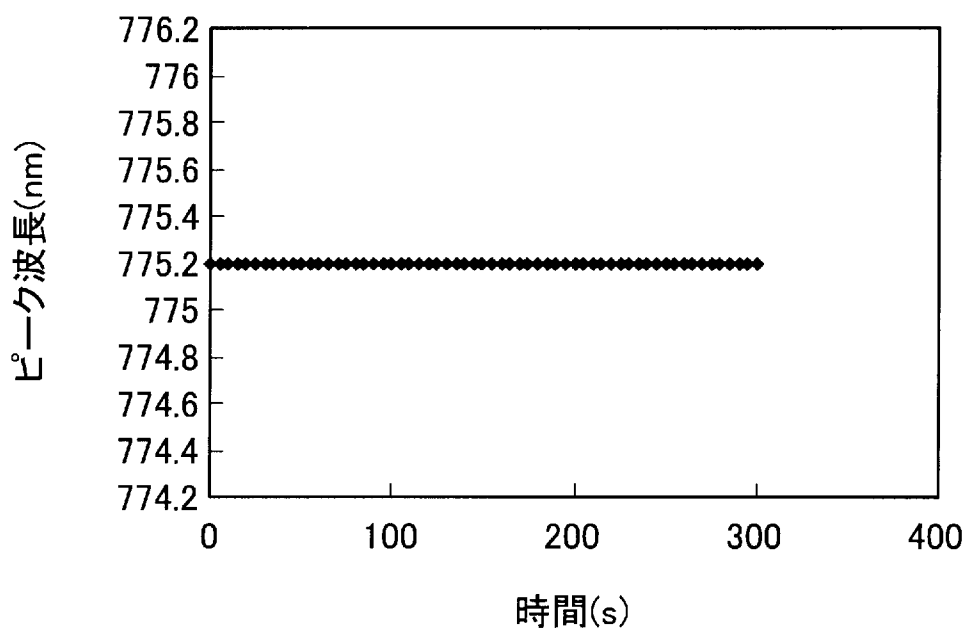
Figure 1: Peak wavelength (nm) versus time (s). The plot shows a series of data points that remain relatively constant around 775 nm, with a slight downward trend as time increases from 0 to 300 seconds.

時間(s)	ピーク波長(nm)
0	775.0
10	775.0
20	775.0
30	775.0
40	775.0
50	775.0
60	775.0
70	775.0
80	775.0
90	775.0
100	775.0
110	775.0
120	775.0
130	775.0
140	775.0
150	775.0
160	775.0
170	775.0
180	775.0
190	775.0
200	775.0
210	775.0
220	775.0
230	775.0
240	775.0
250	775.0
260	775.0
270	775.0
280	775.0
290	775.0
300	775.0

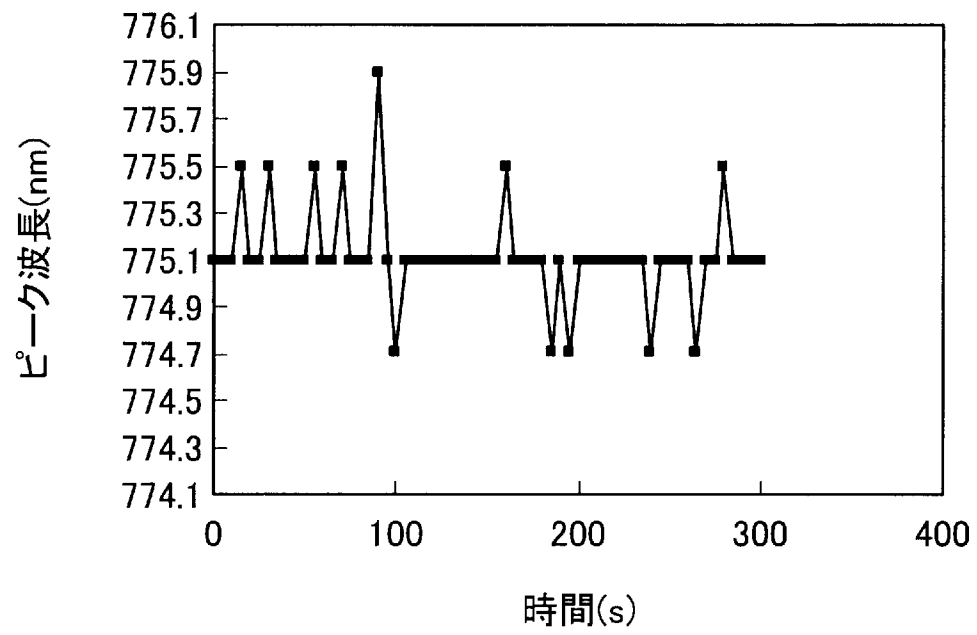
[図35]



[図36]



[図37]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/059591

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N21/01(2006.01)i, G01N21/41(2006.01)i, G02B1/02(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)

G01N21/00-21/74, G02B1/02

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	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	Kelf T A, et.al., "Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids", PHYSICAL REVIEW B, 2006.12.13, Vol.74, p.245415_1 - 245415_12	1, 4, 6, 7, 9 2, 3, 5, 8
Y A	JP 2008-519254 A (D3 Technologies Ltd.), 05 June 2008 (05.06.2008), paragraphs [0033] to [0060] & US 2006/0119853 A1 & GB 424458 D & EP 1817571 A & WO 2006/048660 A1 & CA 2586197 A & AT 523775 T	1, 4, 6, 7, 9 2, 3, 5, 8
Y A	WO 2010/044274 A1 (Tokyo Institute of Technology), 22 April 2010 (22.04.2010), paragraphs [0027] to [0053]; fig. 1 & US 2012/0038926 A1	1, 4, 6, 7, 9 2, 3, 5, 8

☒ 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
03 June, 2014 (03.06.14)

Date of mailing of the international search report
17 June, 2014 (17.06.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2014/059591

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 2011-252928 A (Canon Inc.), 15 December 2011 (15.12.2011), fig. 1, 2; fig. 19 & US 2009/0153866 A1 & WO 2006/118337 A1 & CA 2606182 A	9 2, 3, 5, 8
Y A	JP 2009-222401 A (Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute), 01 October 2009 (01.10.2009), paragraphs [0011] to [0015] (Family: none)	9 2, 3, 5, 8
A	US 2012/0257204 A1 (Robert Joseph Walters), 11 October 2012 (11.10.2012), fig. 3, 4 & WO 2012/138915 A1	1-9
A	JP 2012-511705 A (IMEC), 24 May 2012 (24.05.2012), fig. 4(a) to 5B & US 2011/0249259 A1 & EP 2196796 A1 & WO 2010/066795 A2	1-9

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N21/01(2006.01)i, G01N21/41(2006.01)i, G02B1/02(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（I P C））

Int.Cl. G01N21/00-21/74, G02B1/02

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	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 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）

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

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	Kelf T A , et.al., "Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids", PHYSICAL REVIEW B, 2006.12.13, Vol.74, p.245415_1 - 245415_12	1, 4, 6, 7, 9
A		2, 3, 5, 8
Y	JP 2008-519254 A (ディー 3 テクノロジーズ リミテッド) 2008.06.05, 段落 0 0 3 3 - 段落 0 0 6 0 & US 2006/0119853 A1 & GB 424458 D & EP 1817571 A & WO 2006/048660 A1 & CA 2586197 A & AT 523775 T	1, 4, 6, 7, 9
A		2, 3, 5, 8

☒ 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

0 3 . 0 6 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

1 7 . 0 6 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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）

横尾 雅一

2 W

3 7 1 6

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 0

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 A	WO 2010/044274 A1 (国立大学法人東京工業大学) 2010.04.22, 段落 0 0 2 7 – 段落 0 0 5 3、図 1 & US 2012/0038926 A1	1, 4, 6, 7, 9 2, 3, 5, 8
Y A	JP 2011-252928 A (キヤノン株式会社) 2011.12.15, 図 1、図 2、 図 1 9 & US 2009/0153866 A1 & WO 2006/118337 A1 & CA 2606182 A	9 2, 3, 5, 8
Y A	JP 2009-222401 A (地方独立行政法人 東京都立産業技術研究セン ター) 2009.10.01, 段落 0 0 1 1 – 段落 0 0 1 5 (ファミリーなし)	9 2, 3, 5, 8
A	US 2012/0257204 A1 (Robert Joseph Walters) 2012.10.11, FIG. 3, FIG. 4 & WO 2012/138915 A1	1-9
A	JP 2012-511705 A (アイメック) 2012.05.24, 図 4 (a) – 図 5 B & US 2011/0249259 A1 & EP 2196796 A1 & WO 2010/066795 A2	1-9