(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5137533号
(P5137533)

(45)発行日　平成25年2月6日(2013.2.6)　(24)登録日　平成24年11月22日(2012.11.22)

(51)Int.Cl.　F I
G01N 21/05 (2006.01)　G01N 21/05
G01N 21/27 (2006.01)　G01N 21/27　C

請求項の数 2　(全 18 頁)

(21)出願番号　特願2007-300370(P2007-300370)
(22)出願日　平成19年11月20日(2007.11.20)
(65)公開番号　特開2009-128040(P2009-128040A)
(43)公開日　平成21年6月11日(2009.6.11)
審査請求日　平成22年11月22日(2010.11.22)

(73)特許権者　000001007
キヤノン株式会社
東京都大田区下丸子３丁目３０番２号
(74)代理人　100123788
弁理士　宮崎　昭夫
(74)代理人　100106138
弁理士　石橋　政幸
(74)代理人　100127454
弁理士　緒方　雅昭
(72)発明者　宇都宮　紀彦
東京都大田区下丸子３丁目３０番２号　キヤノン株式会社内

審査官　横井　亜矢子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】標的物質の検出装置

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
検出領域と、該検出領域に隣接する隣接領域とを有する標的物質検知素子を用いる検体中の標的物質を検知するための検知装置であって、
前記標的物質検知素子を保持する保持手段と、
前記保持手段により保持した標的物質検知素子に検体を導入する手段と、
前記保持手段により保持した標的物質検知素子の検出領域とその隣接領域に、検出に必要な入射光を照射し、これらの検出領域とその隣接領域を透過した出射光、あるいはこれらの検出領域とその隣接領域で反射した出射光を得る手段と、
前記検出領域からの出射光を受光する受光手段と、
前記受光手段で受光した出射光の前記入射光に対する光学特性の変化を取得する手段と、
前記変化した光学的特性から検体中の標的物質量を求める手段と、
を有し、
前記標的物質検知素子に照射された入射光は、前記検出領域からの出射光が前記受光手段に入射し、前記隣接領域からの出射光が前記受光手段に入射しないように、前記検出領域及びその隣接領域のいずれかにおいて偏向する、
ことを特徴とする検体中の標的物質を検知するための検知装置。
【請求項２】
前記検体が液体であり、該液体が搬送される流路を有し、該流路中に前記検出領域と前

記隣接領域が設けられている請求項１記載の検知装置。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、標的物質の存在の有無を検知する標的物質検知素子を用いた標的物質の検出装置に関する。
【背景技術】
【０００２】
近年、健康問題や環境問題、更には安全性の問題に対する意識の高まりと共に、これらの問題に関与する生物学的物質、化学的物質を簡便に検出する手法が望まれるようになってきている。その検出手法として、微細な検体搬送用および検出用の流路を持った検知素子が多く提案されている。
【０００３】
これらの検知素子のうち多くがチップ中の流路中に形成されている検出領域で検体中の標的物質の存在の有無、あるいは、存在する量に関連して生じる光学的変化を測定するによって標的物質量の検出を実現している。
【０００４】
光学的変化の測定は検出領域を透過あるいは反射してくる光の強度もしくは分光特性を検出することによって実現しているものが主である。この検出領域は微細流路内に形成されているため、光学的に検出する際には、検出光の位置合わせを厳密に行う必要があり、この位置合わせに関連した提案は多数なされている。
【０００５】
この問題に際して特許文献１において、微細流路、検出用光源、および、検出用受光素子を同一の基板上に形成することによって、副次的に光学的な位置合わせを省く技術が開示されている。
【０００６】
また、特許文献２において、キャピラリ状の微細流路を用いた光学検出システムで、微細流路部に存在する検出部のみを検出光が通るようにキャピラリ側面の一部に入射光および出射光用の透過光部を持たせる技術が開示されている。
【特許文献１】特開２００４－１９８４２０号公報
【特許文献２】特開平６－３２３９８７号公報
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
特許文献１に開示された技術では、検出素子毎に検出用光源となるレーザーダイオード及び受光ダイオードを設ける必要があり、検出素子を製造する工程が長くなる。又、特許文献２に開示された技術では、検出流路となる外形１５０μｍ、内径２５μｍの毛管の外周囲に微細な入力窓と出力窓とを互いに対向する位置に正確に設ける必要がある。
【０００８】
本発明の目的は、上述した先行提案に残された課題に鑑みてなされたものである。微細流路素子を用いて検体中に含まれる標的物質量を光学的に検出する際に必要となる、標的物質の有無による微小な光学特性変化をより感度良くとらえることである。そのために、検出領域外を透過する光、もしくは、検出領域外から反射してくる光により生じるＳ／Ｎ比の劣化防止を厳密な位置合わせをすることなく、簡素な構成でかつ安価に実現することである。
【課題を解決するための手段】
【０００９】
本発明において用いられる検知素子は、入射光を導入して出射光を得ることのできる検出領域と、該検出領域に隣接する領域とを有し、前記入射光の光学特性が検体中の標的物質が該検出領域に存在することにより変化して前記出射光として取り出されることを用い

て該標的物質を検知する標的物質検知素子であって、
前記検出領域と前記検出領域に隣接する領域のいずれか一方の領域で、前記光が偏向されることを特徴とする標的物質検知素子である。
【００１０】
本発明にかかる検体中の標的物質を検知するための検知装置は、
検出領域と、該検出領域に隣接する隣接領域とを有する標的物質検知素子を用いる検体中の標的物質を検知するための検知装置であって、
前記標的物質検知素子を保持する保持手段と、
前記保持手段により保持した標的物質検知素子に検体を導入する手段と、
前記保持手段により保持した標的物質検知素子の検出領域とその隣接領域に、検出に必要な入射光を照射し、これらの検出領域とその隣接領域を透過した出射光、あるいはこれらの検出領域とその隣接領域で反射した出射光を得る手段と、
前記検出領域からの出射光を受光する受光手段と、
前記受光手段で受光した出射光の前記入射光に対する光学特性の変化を取得する手段と、
前記変化した光学的特性から検体中の標的物質量を求める手段と、
を有し、
前記標的物質検知素子に照射された入射光は、前記検出領域からの出射光が前記受光手段に入射し、前記隣接領域からの出射光が前記受光手段に入射しないように、前記検出領域及びその隣接領域のいずれかにおいて偏向する、
ことを特徴とする検体中の標的物質を検知するための検知装置である。
【発明の効果】
【００１１】
本発明の効果として、検体内の検出対象物質としての標的物質の量を分析する装置のＳ／Ｎ比の向上を簡素な構成で実現することが可能となる。また、検体内の検出対象物質としての標的物質の量を計測するための検知素子の簡素化が可能となり、低価格化が可能となる。
【発明を実施するための最良の形態】
【００１２】
発明者は、検出領域に導入された光の光学特性の変化を検出することによって検体中の標的物質の存在を検知するための検出素子において、検出領域と検出領域の周辺からの光を同時にモニターするため、検出光のＳ／Ｎ比が劣化することを見いだした。
【００１３】
検知素子においては、基板に設けられた流路中に検出領域が形成され、検出領域と該検出領域の周辺領域の流路の形状を変えることで、これらの一方の領域で光を偏向させ、検出領域からの光と、検出領域の周囲領域からの光を分離することができることを発明者は見いだした。
【００１４】
検出領域と該検出領域の周辺領域となる流路の形状を変えることで、一方の領域で光を偏向させることができる。即ち、検出領域を形成する面とその周辺領域を形成する面の角度を変えることで、検出領域を透過、あるいは、反射する光の方向と、周辺領域を透過、あるいは、反射する光の方向とは異なった方向となる。
【００１５】
即ち、検出領域と検出領域の周辺の領域の断面形状を変えることで、屈折あるいは反射によって、検出領域を透過もしくは反射する光と周辺を透過もしくは反射する光の進行方向を異ならせることができる。この結果、検出領域を透過もしくは反射してきた光を光検出手段に導くことにより検出光のＳ／Ｎ比を向上させることができる。
【００１６】
本発明は、入射光を導入して出射光を得ることのできる検出領域と、該検出領域に隣接する領域とを有し、前記入射光の光学特性が、検体中の標的物質が該検出領域に存在する

ことにより変化して前記出射光として取り出されることを用いて該標的物質を検知する標的物質検知素子であって、前記検出領域と前記検出領域に隣接する領域のいずれか一方の領域で、前記光が偏向されることを特徴とする標的物質検知素子であり、検体が導入される空間が、検体が搬送される流路であることが好ましい。

【００１７】

本発明は、上述の標的物質検知素子を用いた検体中の標的物質を検知するための検知装置であって、

前記標的物質検知素子を保持する手段と、

前記標的物質検知素子に検体を導入する手段と、

前記標的物質検知素子中の検出領域に検出に必要な入射光を照射する手段と、

前記検知素子の検出領域を透過もしくは反射した出射光を受光する手段と、

前記受光する手段で受光した出射光の前記入射光に対する光学特性の変化を取得する手段と、

前記変化した光学的特性から検体中の標的物質量を求める手段と、

を有することを特徴とする検体中の標的物質を検知するための検知装置である。

【００１８】

本発明を実施するにあたり最良の形態を説明する。

【００１９】

（検知素子構成）

本発明を構成する標的物質検知素子を図１の概要図を元に説明する。

【００２０】

標的物質検知素子の基板１０１は、光学的に透明であれば特に制約はないが、石英、ガラス、ポリスチレン、ＰＤＭＳ、アクリル、ＰＥＴが好適である。また構成として２つの板状の素材を貼り合わせた構成が主に用いられる。この際に２つの素材が同一素材でもよいし、異なる素材を用いても構わない。

【００２１】

基板１０１には、検体導入口１０２と検体排出口１０７とを持った流路１０３が設けられている。図１では、流路１０３内に、血球除去部１０４及び凝固因子除去部１０５が設けられている。ただし、本構成は、全血を検体とした際の最良の構成であり、必ずしも本発明の構成に必須ではない。この血球除去部１０４は、ポリビニリデンフロライド製の繊維を用いることが好ましい。また凝固因子除去部１０５は、繊維状のＰＥＴ樹脂を用いることが好ましい。

【００２２】

さらにこの流路内には、検出領域１０６が設けられている。検出領域１０６で用いられる標的物質の検出は、検体中の標的物質の存在によって、光学特性が変化するものであれば特に制約はないが、酵素法、比色法、酵素免疫測定法、蛍光免疫測定法、表面プラズモン共鳴法、局在表面プラズモン共鳴法が使用可能である。以上のうち、表面プラズモン共鳴法においては通常反射光を利用し、他の測定方法では通常透過光を利用する。本標的物質検知素子の検出領域およびその周辺を、詳細に図２及び図３を用いて説明する。

【００２３】

図２は、検出領域周辺を拡大した平面図で、図３は、図２のＡ－Ａ’断面の断面図である。

【００２４】

図２では、基板１０１に設けられた流路１０３中に検体中の標的物質の有無により光学特性が変化する検出領域１０６が設けられている。検出領域１０６の周囲には、入射光が検出領域を照射した際に、透過光、あるいは、反射光のいずれかを偏向させる検出領域周辺部１０８が設けられている。

【００２５】

図３の断面図を用いて検出領域１０６の構造をより詳細に説明する。基板１０１に設けられた流路１０３の底面は、基板１０１の平面と平行な面で形成され、検出領域１０６の

周囲には検出領域周辺部１０８が設けられている。検出領域周辺部１０８は、検出領域１０６の面と角度を持った斜面となっている。

【００２６】

この結果、検出領域１０６の面に対して光軸が垂直な平行光が入射した場合、透過光は、検出領域１０６を透過する光（１）に対して、検出領域周辺部１０８を透過する光（２）は偏向され、光（１）の外側に出射される。

【００２７】

反射光も同様に、検出領域１０６で反射された反射光（１）は、基板１０１の平面と垂直な方向に反射する。これに対し、検出領域周辺部１０８で反射した反射光（２）は、反射光（１）の外側に出射される。

【００２８】

流路１０３及び検出領域１０６が設けられた基板１０１は素子上蓋１０９により覆われている。素子上蓋１０９は、前述したように、基板１０１と同一素材でもかまわないし、異種素材でも構わない。

【００２９】

図３では、検出領域１０６が基板１０１の平面と平行な面で形成され、検出領域周辺部１０８が、基板１０１とある角度を持った斜面の例を示している。これに対し、流路１０３の底部を基板１０１の平面と平行な面で形成し、検出領域１０６の面を、基板１０１とある角度を持った面で形成しても良い。

【００３０】

つまり、検出領域１０６を透過する、あるいは、反射する光に対し、検出領域１０６の周囲の検出領域周辺部１０８を透過する、あるいは、反射する光の一方の光を偏向させ異なる角度に出射することで達成することができる。

【００３１】

（検出装置部）

図４は、図３で説明した構成の標的物質検知素子を用いた、標的物質を検知するための検知装置の光学系の概要と効果を発生するメカニズムを示した図である。

【００３２】

図中、点線で囲われた部分は、図３の構成を持った標的物質検知素子であるので構成の詳細は省略する。尚、図中の符号は、図３と同一である。

【００３３】

標的物質検知素子３１３の検出領域１０６と対向する位置に光源ファイバ１１０及びコリメートレンズ１１１が配されている。

【００３４】

光源ファイバ１１０から出射された光は、コリメートレンズを透過することで平行光にコリメートされる。図では、光源ファイバ１１０、コリメートレンズ１１１、及び、基板１０１の素子上蓋１０９が設けられた面と対向する側から、基板１０１の平面と垂直な光軸を持った平行光が、検出領域１０６に入射されるように配置されている。

【００３５】

素子上蓋１０９が設けられた面と対向する側には、検出領域１０６を透過した光を受ける受光素子１１４が配されている。

【００３６】

光源ファイバ１１０及びコリメートレンズ１１１が、素子上蓋１０９に設けられ、素子上蓋１０９の面と垂直に平行光が入射される様に配置し、基板１０１の素子上蓋１０９と対向する側に受光素子１１４を配することもできる。

【００３７】

図では、光源として光源ファイバ１１０から出射される拡散光を用いているが、光源はこれに限定されるものではない。光源ファイバ１１０から出射された光は、コリメートレンズ１１１を介して平行光に調整したが、ミラー光学系、回折格子光学系を用いてもかまわないし、これらを組み合わせた光学系によって、平行光にコリメートしても構わない。

【００３８】
標的物質検知素子３１３に入射される平行光により、検出領域１０６及び検出領域周辺部１０８が照射される。検出領域１０６の面に垂直な方向から照射される平行光であるので、検出領域を透過した光は、素子上蓋１０９の面に垂直な方向に透過した平行光である検出光１１２が受光素子１１４に照射される。
【００３９】
これに対し、検出領域周辺部１０８を透過する入射光は、基板１０１の平面と角度を持った斜面を形成しているので、屈折により平行光である検出光１１２の外側に偏向した検出領域周辺透過光１１３となり、受光素子１１４へ入射されることがない。
【００４０】
本発明は本実施形態のみに制限されるものではなく、検出領域からの検出光と検出領域周辺部からの光とを検出領域と検出領域周辺部によって異なる角度に導く（偏向させる）ことによって、検出領域周辺部からの光が受光部に入射されない構成であれば良い。詳細は省略するが、たとえば、表面プラズモン共鳴法を用いて反射光を検出光とする場合に、検出領域外から反射されてきた光を偏向させることも可能である。
【００４１】
（実施例）
以下では、実施例をもって本発明を説明するが、これらは本発明をなんら限定するものではない。
【００４２】
（実施例１）
実施例１は、図２から６を用いて説明した標的物質検知素子と同じ構造をしているので構造の詳細については省略する。
【００４３】
（素子作製方法）
本実施例の、基板１０１は、材料として、ポリスチレン樹脂を用い、金型を用いた射出成型にて形成することができる。
【００４４】
コリメートレンズ１１１によりコリメートされた平行光のスポットサイズは、検出領域よりも大きければ特に問題はない。
【００４５】
受光素子１１４を、素子上蓋１０９から離れた位置に配置する。
【００４６】
本実施例では、基板１０１を形成後、ヒトＣ反応性蛋白と結合する抗ヒトＣＲＰ－マウスモノクローナル抗体（Ｂｉｏｇｅｎｅｓｉｓ社製）溶液を検出領域１０６に自動滴下装置（スポッタ）を用いて滴下する。その後、インキュベーションし検出領域１０６に固定化を行う。この結果、捕捉分子となる抗ヒトＣＲＰ－マウスモノクローナル抗体が、検出領域に固定化される。物理吸着後必要に応じて、牛血清アルブミンなどの非特異的吸着の抑制作用を持った試薬をもちいて非特異的吸着反応を抑制するための処理を行ってもよい。
【００４７】
図５は、後述の検出時の反応が完了した場合の検出領域２０１を示している。捕捉分子となる固相抗体２０２が検出領域２０１に固定化されている。このため、検出領域１０６の一部は、補足分子が固定化されていない。
【００４８】
その後、素子上蓋１０９で基板１０１を覆い標的物質検知素子３１３が形成される。
【００４９】
（装置構成）
装置構成は、上述の図４と同一構成であるので、構成の詳細な説明は省略する。
【００５０】

本実施例では、光源としてハロゲンランプ（不図示）を用い、該ハロゲンランプからの光を光源ファイバ１１０に導入する。ハロゲンランプからの光は、バンドパスフィルター（不図示）を用い検出に必要な波長を光源ファイバ１１０に導入する。

【００５１】

光源ファイバ１１０の端面から照射された光は、コリメートレンズ１１１を介してコリメートされ平行光となり、標的物質検知素子３１３の検出領域１０６を照射する。

【００５２】

検出領域を透過した平行光である検出光１１２は、素子上蓋１０９上に配されたＳｉフォトダイオードからなる受光素子１１４に照射される。検出に用いる波長に十分な感度を持った受光素子であれば、Ｓｉフォトダイオード以外の受光素子であっても良い。

【００５３】

検出時には、コリメートレンズ１１１によってコリメートされた平行光である検出光１１２は、検出領域１０６および検出領域周辺部１０８を照射する。ここで、検出領域周辺部１０８は検出領域１０６の光が入射される面と角度を持っているため、検出領域１０６を透過する光は直進し、検出領域周辺部１０８を透過する検出領域周辺透過光１１３は、基板１０１と流路１０３内部との屈折率差によって、検出領域を透過する平行光である検出光１１２と異なる角度に偏向させられる。

【００５４】

本実施例では、基板１０１の屈折率が流路１０３内部の屈折率よりも大きいために、検出領域周辺部１０８を透過する検出領域周辺透過光１１３は平行光である検出光１１２の外方に偏向させられる。

【００５５】

ここで、受光素子１１４を、検出領域周辺透過光１１３が照射されない領域に配することで検出領域１０６を透過する平行光である検出光１１２を受光することができる。この結果、検出領域周辺部１０８を透過する検出領域周辺透過光１１３によるＳ／Ｎ比の低下を防ぐことが可能となる。

【００５６】

光学部以外の装置の構成要素を、検出装置の電気的な構成を示したブロック図である図６を用いて説明する。

【００５７】

中央演算装置３０１には、主記憶メモリ３０２、プログラムを保管するハードディスク３０３、検出装置のステータスおよび検出結果を表示するための表示デバイス３０４、検出装置に計測等指示を与えるためのキーボード３０５が接続されている。ハードディスク３０３には、本検出装置を動作させるために必要な制御プログラムが保管されている。

【００５８】

中央演算装置３０１には、

１．光源となるランプ３０７及び、ランプ３０７を制御する点灯制御回路３０６

２．標的物質検知素子３１３と標的物質検知素子３１３の流路に検体を供給するポンプユニット３１２

３．検出光を受光するＳｉフォトダイオード３１１及び、Ｓｉフォトダイオード３１１が受光した光量に応じた電流が出力される電流を電圧に変換するＩＶ変換回路３１０、及び、電圧値をデジタルのデータに変換するＡＤ変換器３０９

が接続されている。

【００５９】

（測定手順）

測定手順を、図６を用いて説明する。まず、標的物質検知素子３１３を検出装置に設置する。次に、対象となる検体をポンプユニット３１２によって、規定量分注し、標的物質検知素子３１３に導入する。ここでは、未知の濃度のヒトＣ反応性蛋白（ＣＲＰ）が含まれた検体を用いる。

【００６０】

導入後一定時間インキュベーションし、ポンプユニット３１２から０．１％のＴｗｅｅｎ２０（商品名、キシダ化学より購入、界面活性剤）を含んだ、リン酸バッファ溶液を導入し洗浄する。洗浄後、ポンプユニット３１２よりヒトＣ反応性蛋白と結合する抗ヒトＣＲＰ－ＨＲＰ（西洋わさびペルオキシダーゼ）標識ヤギ抗体（ＢＥＴＨＹＬ　ＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ　ＩＮＣ．社製）溶液を導入する。

【００６１】

導入後インキュベーションし、再度ポンプユニット３１２より０．１％のＴｗｅｅｎ２０（商品名、キシダ化学より購入、界面活性剤）を含んだ、リン酸バッファ溶液を導入し洗浄する。洗浄後、図５のように、固相抗体２０２と酵素標識２０５（ここではＨＲＰ）で標識された２次抗体２０４によって、抗原２０３（ここでは、ヒトＣ反応性蛋白）を挟み込んで固定化した形となる。ここで、２次抗体２０４、及び、酵素標識２０５は、抗原２０３の量に依存するため、酵素標識２０５のＨＲＰの活性を見ることで、抗原量を知ることができる。

【００６２】

ポンプユニット３１２より酵素基質である、１，２－フェニレンジアミン溶液を標的物質検知素子３１３に導入する。この結果生成する酵素生成物は、４９１ｎｍに吸収を持つ。４９１ｎｍでの吸収を計測することにより検出対象物質量をもとめることができる。ここでランプ３０７を点灯し、Ｓｉフォトダイオード３１１により透過光を計測する。ここでは不図示であるが、検出に用いる入射光を４９１ｎｍ前後の波長域に制限するためのバンドパスフィルターを介して透過光を計測する。実際には、波長４９１ｎｍの吸光度を求める。この吸光度が抗原量に関連するため吸光度より抗原量を求めることが出来る。あらかじめ既知の濃度の検出対象物質（ここではヒトＣ反応性蛋白）とから求めておいた検量線をもとに未知の検体中の検出対象物質量をもとめることができる。

【００６３】

（実施例２）

実施例２の標的物質検知素子、及び、該標的物質検知素子を用いた標的物質標的物質を検知するための検知装置の構造を図７～図１２を用いて説明する。

【００６４】

図７は、実施例２の標的物質検知素子３１３の検出領域１０６の平面図である。基板１０１に形成された流路１０３の一部が検出領域１０６となっている。

【００６５】

図８は図７のＢ－Ｂ’の断面を示している。基板１０１に形成された流路１０３の検出領域１０６は、基板１０１の平面とある角度を持った斜面となっている。基板１０１は、素子上蓋１０９により覆われている。

【００６６】

図９は、図７のＣ－Ｃ’の断面を示している。基板１０１に形成された流路１０３の底面は、基板１０１の平面と平行な面となっている。基板１０１は、素子上蓋１０９により覆われている。

【００６７】

尚、本実施例では、検出領域１０６を基板１０１の平面に対し角度を持たせる。しかしながら、検出領域１０６は、基板１０１の平面と平行にし、流路１０３の底面を基板１０１の平面に対して角度を持たせても良い。

【００６８】

図１０は、上述の標的物質検知素子を用いた標的物質標的物質を検知するための検知装置の光学系の概念図である。

【００６９】

標的物質検知素子の検出領域１０６と対向する位置に光源ファイバ１１０及びコリメートレンズ１１１が配されている。光源ファイバ１１０及びコリメートレンズ１１１からなる光学系は、図４で説明した検知装置の光学系と同一であるので説明は省略する。

【００７０】

本実施例では、検出領域１０６に入射された平行光は、検出領域１０６が基板１０１の平面と角度をなす斜面であるので、検出領域を透過した平行光である検出光１１２は、平行光の外側に偏向される。これに対し、検出領域１０６の周辺部に入射され、透過した検出領域周辺透過光１１３は、基板１０１の平面と垂直な平行光である。

【００７１】

本実施例では、実施例１と異なり、受光素子に変えて、凹面ミラー１１５が配されている。平行光である検出光１１２は、凹面ミラー１１５に入射され収束された収束検査光１１６となる。収束検査光１１６は、凹面ミラー１１５の焦点で収束されるので、凹面ミラー１１５の焦点に検出プローブファイバー１１７を配することで、検出領域１０６を透過した光が検出プローブファイバー１１７の一方の端面に入射される。図示していないが、検出プローブファイバー１１７の他方の端面に受光素子を配することで、受光素子で検出領域１０６を透過した光を受けることができる。

【００７２】

（素子作製方法）

本実施例では、金コロイド粒子の局在プラズモンを用いた標的物質検知素子３１３を用いて説明する。

【００７３】

本実施例の基板材料も実施例１と同様にポリスチレン樹脂を用い、実施例１と同様に、金型を用いた射出成型法を用いて、図７から９の構造の基板１０１を形成する。

【００７４】

コリメートレンズ１１１によりコリメートされた平行光のスポットサイズは、検出領域よりも大きければ特に問題はない。

【００７５】

凹面ミラー１１５を、平行光の照射領域から所定距離離し、素子上蓋１０９から所定距離離れた位置に配する。

【００７６】

基板１０１を形成後、検出領域１０６に検体中の標的物質を検出するための処理を行う。

【００７７】

図１１は、検出領域を模式的に表わした概要図である。マスクを用いることにより、検出領域２０１の表面が、アミノシランにより処理されており、アミノ基が提示された状態になっている。図ではアミノ基に金コロイド２０６が担持されている。金コロイドの担持は、金コロイド溶液を検出領域上にプロッタによって滴下する。滴下後、インキュベーションすると、アミノ基に金コロイド粒子が固定される。この固定金コロイドに金と親和性の高いチオール基を持つ、１１－Ｍｅｒｃａｐｔｏｕｎｄｅｃａｎｏｉｃ ａｃｉｄのエタノール溶液を加え微粒子を表面修飾する。その状態で、Ｎ－Ｈｙｄｒｏｘｙｓｕｌｆｏｓｕｃｃｉｎｉｍｉｄｅ（同仁化学研究所社製）水溶液と１－Ｅｔｈｙｌ－３－［３－ｄｉｍｅｔｈｙｌａｍｉｎｏ］ｐｒｏｐｙｌ］ｃａｒｂｏｄｉｉｍｉｄｅ ｈｙｄｒｏｃｈｌｏｒｉｄｅ（同仁化学研究所社製）水溶液を加え、室温で１５分間インキュベートする。これにより、微粒子表面にスクシンイミド基が露出される。続いて、固定化する抗体として、標的物質に特異的な抗ヒトＡＦＰ－マウスモノクローナル抗体（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ，ＩＮＣ製）／２－［Ｎ－ｍｏｒｐｈｏｌｉｎｏ］ｅｔｈａｎｅ ｓｕｌｆｏｎｉｃ ａｃｉｄ緩衝液（ｐＨ６．０）を加え、室温で２時間インキュベートする。金表面上に配置されたスクシンイミド基と抗ヒトＡＦＰ－マウスモノクローナル抗体のアミノ基を反応させることにより、固相抗体２０２となる抗ヒトＡＦＰ－マウスモノクローナル抗体を金コロイド表面上に固定化する。金コロイド表面上の未反応のスクシンイミド基は、Ｈｙｄｒｏｘｙｌａｍｉｎｅ Ｈｙｄｒｏｃｈｌｏｒｉｄｅを添加して脱離させる。

【００７８】

尚、図１１では検出時の反応が完了した場合の検出領域を示しているが、検出領域に固相抗体２０２を固定した状態で標的物質検知素子用の基板１０１は、完成している。その

後、基板１０１を素子上蓋１０９で覆うことで標的物質検知素子となる。

【００７９】

（装置構成）

図１２は、図１０で説明した光学系を用いた標的物質を検出する検出装置の概念図である。光学系と検出光の処理が異なる以外は図６で説明した検出装置と同様の構成をしているので詳細は省略する。

【００８０】

図６の検出装置では、Ｓｉフォトダイオード等の受光素子により、検出光の強度を電圧に変換することで分析を行っていた。本実施例に係わる図１２の検出装置では、中央演算装置３０１に分光測定器３０８が接続されている。分光測定器から得られた、透過スペクトル形状が、中央演算装置３０１に取り込まれる。

【００８１】

（測定手順）

測定手順を、図１２を用いて説明する。まず、標的物質検知素子３１３を検出装置に設置する。対象となる検体をポンプユニット３１２によって、規定量分注し、検知素子に導入する。ここでは、未知の濃度のヒトＡＦＰが含まれた検体を用いる。導入後一定時間インキュベーションすると、図１１のように、固相抗体２０２に、抗原２０３（ここでは、ヒトＡＦＰ）が固定化された形となる。

【００８２】

固定化された抗原量はもとの検体中のヒトＡＦＰ濃度に関係する。局在プラズモン共鳴による検出手法では、金属微粒子の局在プラズモン共鳴によって、特定の波長で吸収が大きくなることが知られている。この吸収ピーク波長は、金属微粒子近傍の屈折率によって変化するため、検出対象物質が捕捉体に捕捉された際に金属微粒子近傍の屈折率が変化するため、この吸収ピーク波長がシフトする。よってこのシフト量を検出することによって、検出対象物質の量を求めることができる。あらかじめ既知の濃度の検出対象物質（ここではヒトＡＦＰ）とから求めておいた検量線をもとに未知の検体中の検出対象物質量をもとめることができる。

【図面の簡単な説明】

【００８３】

【図１】本発明の検知素子の全体図である。

【図２】第１の実施例の検知素子の検出部の平面図である。

【図３】第１の実施例の断面図（Ａ－Ａ’断面）である。

【図４】第１の実施例の検出装置と検知素子の概要図である。

【図５】第１の実施例の検知素子の検出部の拡大図である。

【図６】第１の実施例の検出装置のブロック図である。

【図７】第２の実施例の検知素子の検出部の平面図である。

【図８】第２の実施例の断面図（Ｂ－Ｂ’断面）である。

【図９】第２の実施例の断面図（Ｃ－Ｃ’断面）である。

【図１０】第２の実施例の検出装置と検知素子の概要図である。

【図１１】第２の実施例の検知素子の検出部の拡大図である。

【図１２】第２の実施例の検出装置のブロック図である。

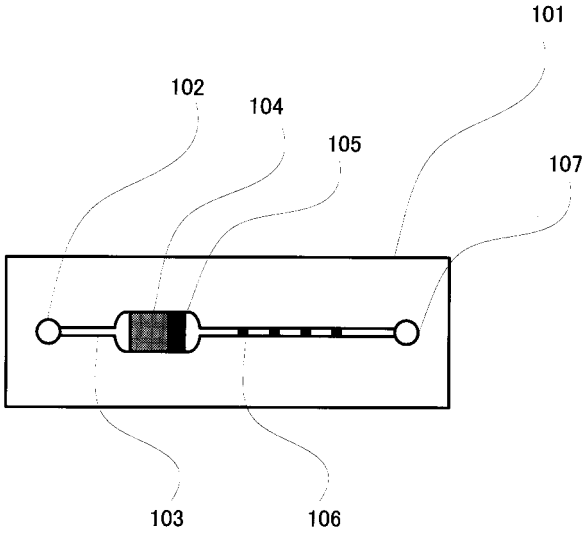
【符号の説明】

【００８４】

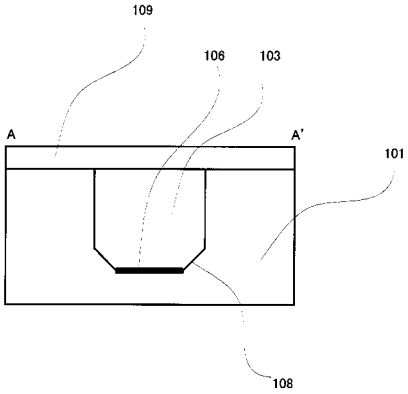
１０１　基板
１０２　検体導入口
１０３　流路
１０４　血球除去部
１０５　凝固因子除去部
１０６　検出領域
１０７　検体排出口

１０８　検出領域周辺部
１０９　素子上蓋
１１０　光源ファイバ
１１１　コリメートレンズ
１１２　検出光
１１３　検出領域周辺透過光
１１４　受光素子
１１５　凹面ミラー
１１６　集束検出光
１１７　検出プローブファイバー
２０１　検出領域
２０２　固相抗体
２０３　抗原
２０４　２次抗体
２０５　酵素標識
３０１　中央演算装置
３０２　主記憶装置
３０３　ハードディスク
３０４　表示デバイス
３０５　キーボード
３０６　点灯制御回路
３０７　ランプ
３０８　分光測定器
３０９　ＡＤ変換器
３１０　ＩＶ変換回路
３１１　Ｓｉフォトダイオード
３１２　ポンプユニット

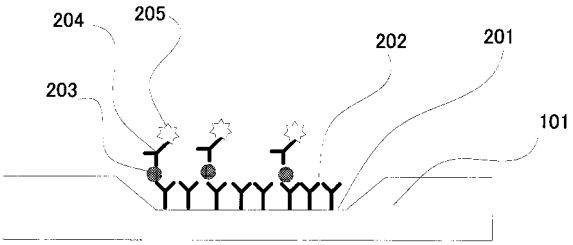
【図１】



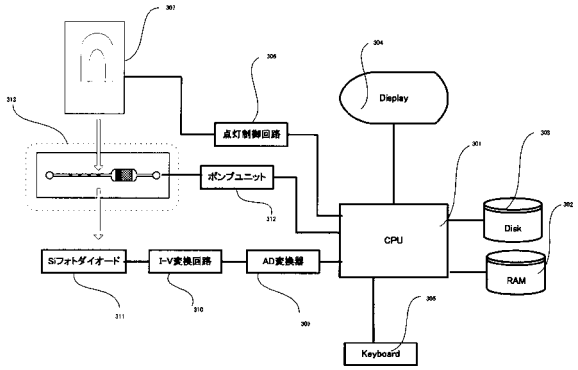
【図３】



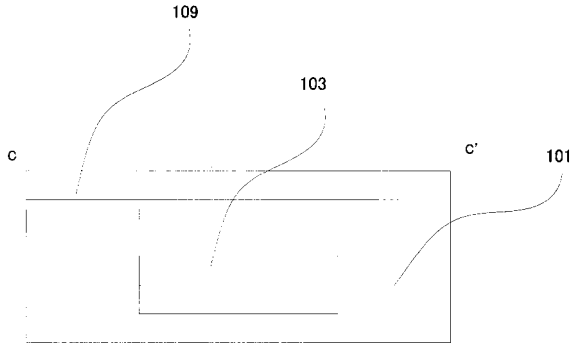
【図５】



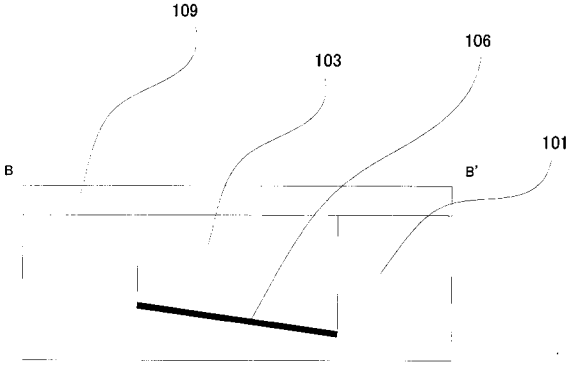
【図６】



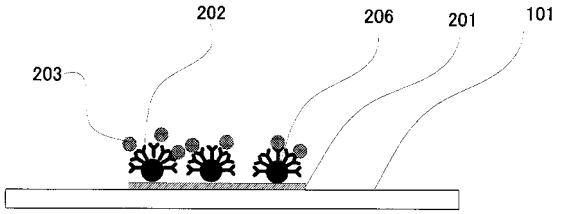
【図９】



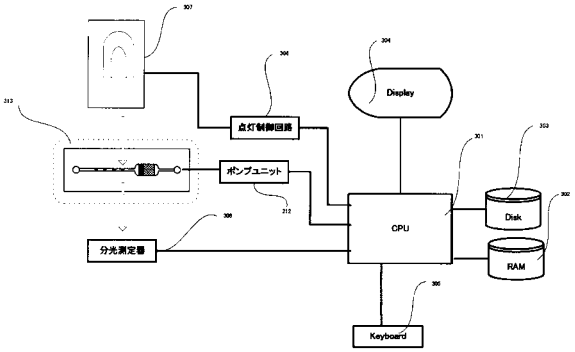
【図８】



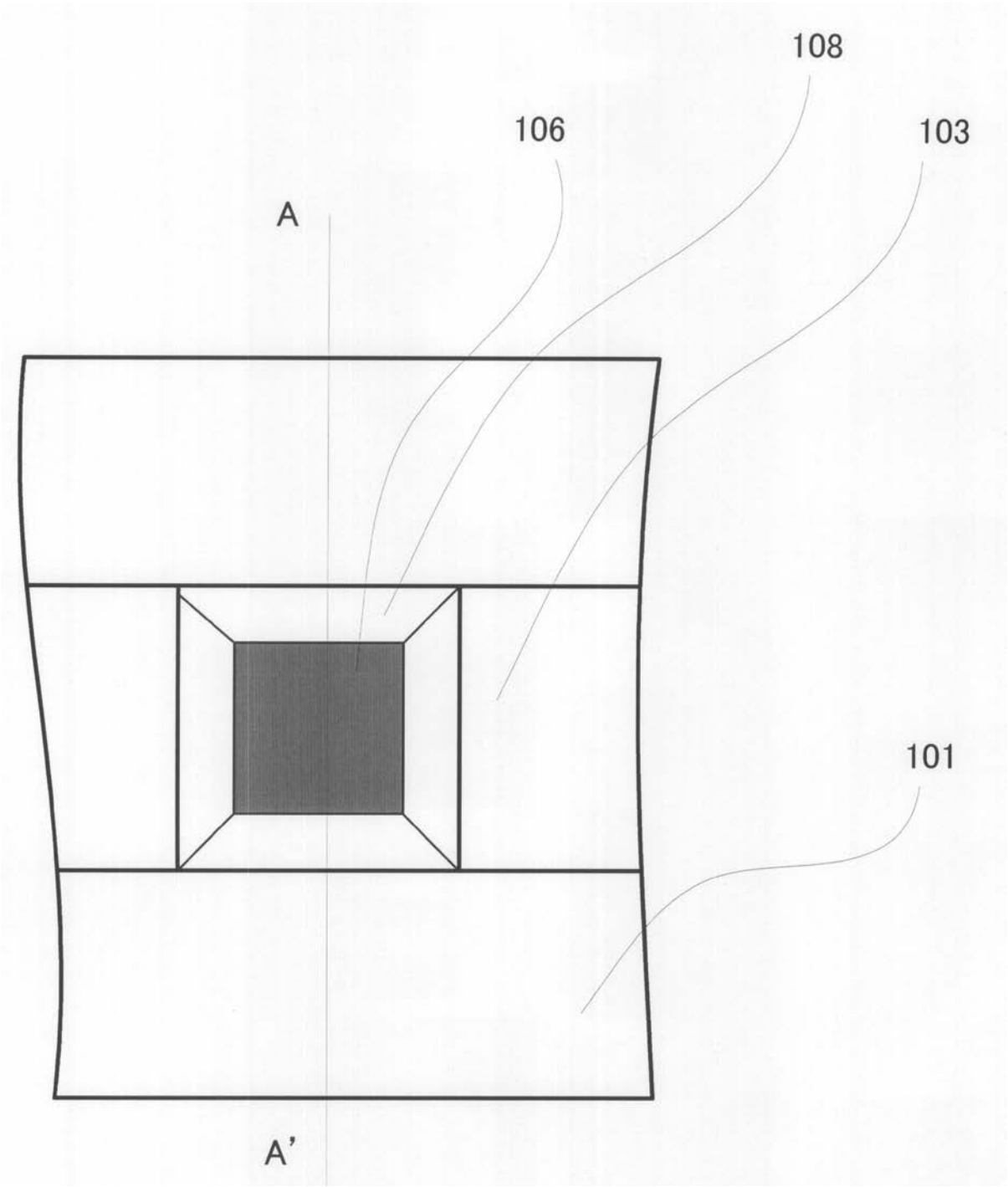
【図１１】



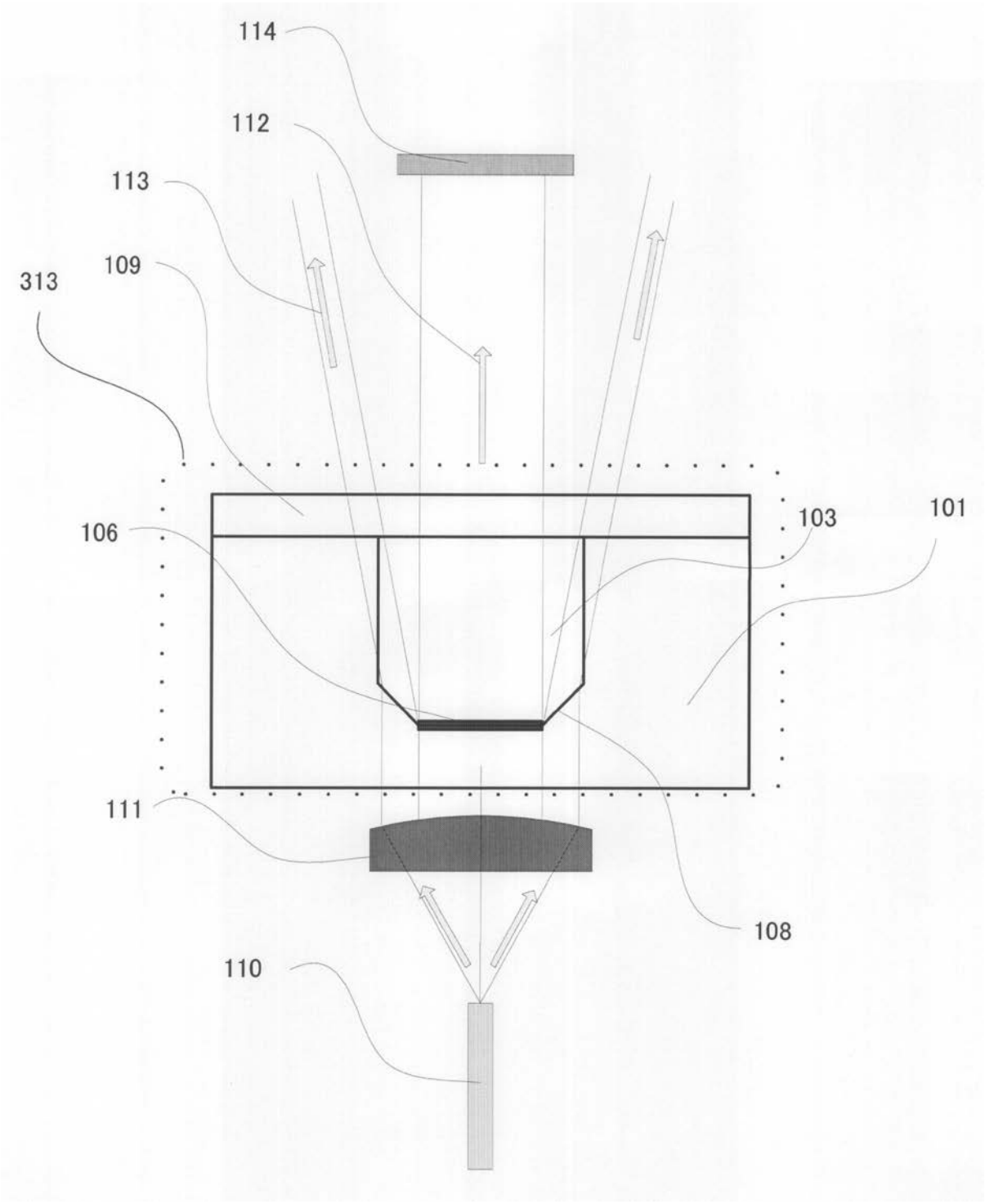
【図１２】


307
304
Display
313
点灯制御回路
ポンプユニット
301
303
312
CPU
Disk
302
309
分光測定器
RAM
305
Keyboard

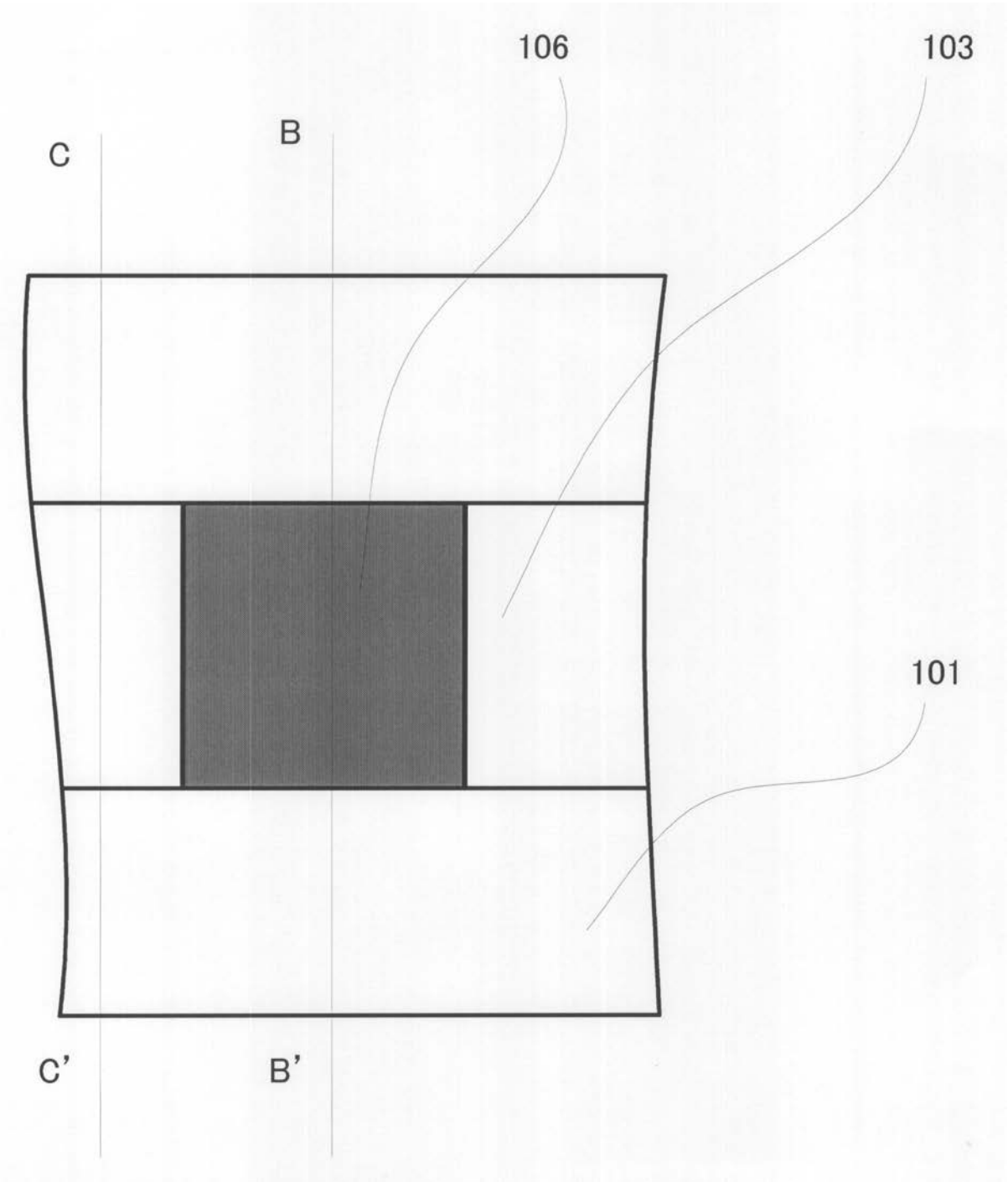
【図２】



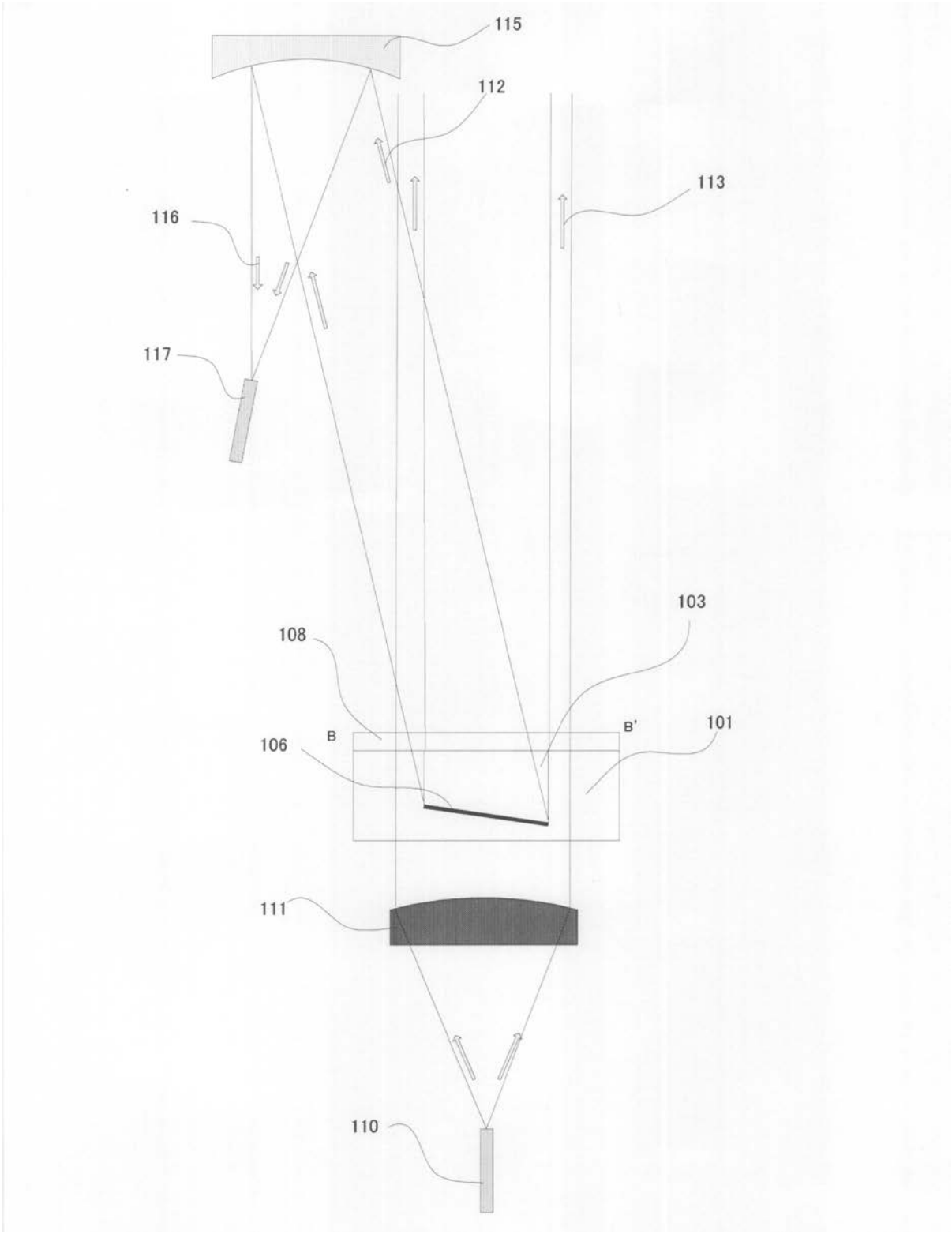
【図４】



【図７】



【図１０】



フロントページの続き

(56)参考文献　特開２００５－０１７１８５（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２００５／１２１７５０（WO，Ａ１）
特開２００３－２７９４８１（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ　２１／００－２１／８３