

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第6991972号
(P6991972)

(45)発行日 令和4年1月13日(2022.1.13)

(24)登録日 令和3年12月10日(2021.12.10)

(51)国際特許分類

F I

G 0 1 N	21/64	(2006.01)	G 0 1 N	21/64	G
G 0 1 N	21/41	(2006.01)	G 0 1 N	21/41	1 0 1
G 0 1 N	21/03	(2006.01)	G 0 1 N	21/03	Z
G 0 1 N	33/543	(2006.01)	G 0 1 N	21/41	1 0 2
			G 0 1 N	21/64	F

請求項の数 20 (全31頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-529875(P2018-529875)
 (86)(22)出願日 平成29年7月24日(2017.7.24)
 (86)国際出願番号 PCT/JP2017/026684
 (87)国際公開番号 WO2018/021238
 (87)国際公開日 平成30年2月1日(2018.2.1)
 審査請求日 令和2年3月18日(2020.3.18)
 (31)優先権主張番号 特願2016-148345(P2016-148345)
 (32)優先日 平成28年7月28日(2016.7.28)
 (33)優先権主張国・地域又は機関

日本国(JP)

(出願人による申告)平成27年度、国立研究開発法人日本医療研究開発機構、医療分野研究成果展開事業(先端計測分析技術・機器開発プログラム)「QOL向上と医療費削減に貢献する前立腺癌自動血液検査システムの開発」委託研究開発、産業技術力強化法第19条の適用
 最終頁に続く

(73)特許権者 000206956
 大塚製薬株式会社
 東京都千代田区神田司町2丁目9番地
 (74)代理人 100145403
 弁理士 山尾 憲人
 (72)発明者 金子 智典
 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号
 コニカミノルタ株式会社内
 (72)発明者 永江 剛典
 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号
 コニカミノルタ株式会社内
 (72)発明者 彼谷 高敏
 東京都千代田区丸の内二丁目7番2号
 コニカミノルタ株式会社内
 (72)発明者 中村 幸登

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 検出チップ、検出システムおよび検出方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

上部および側部に開口を有する収容部を含むウェル本体と、
 被検出物質を捕捉するための捕捉領域が配置されている側壁部材と、
 を有し、

前記側壁部材は、前記収容部の側部の開口を介して前記捕捉領域の少なくとも一部が前記収容部内に露出し、かつ前記側壁部材が前記収容部の側部の開口の少なくとも一部を閉塞するように、前記ウェル本体に固定されている、
 検出チップ。

【請求項2】

前記側壁部材は、光学素子を含む、請求項1に記載の検出チップ。

【請求項3】

前記光学素子は、プリズム、微細な凸部または凹部が周期的に配列されている部材、光導波路または光反射部材である、請求項2に記載の検出チップ。

【請求項4】

前記光学素子は、光を入射させるための入射面と、前記入射面で入射した光を反射させるための反射面とを含むプリズムであり、
 前記捕捉領域は、前記反射面上に金属膜を介さずまたは金属膜を介して配置されている、
 請求項3に記載の検出チップ。

【請求項5】

前記側壁部材は、前記反射面上に配置された金属膜を有し、
前記捕捉領域は、前記金属膜上に配置されている、
請求項 4 に記載の検出チップ。

【請求項 6】

前記ウェル本体の、前記収容部を構成する側壁のうち前記捕捉領域と対向する側壁は、光透過性を有している、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の検出チップ。

【請求項 7】

前記光学素子は、微細な凸部または凹部が周期的に配列されており、かつその表面が金属で被覆されている回折格子であり、

前記回折格子は、前記収容部の側部の開口を介して前記収容部内に露出し、

前記捕捉領域は、前記回折格子上に配置されており、

前記ウェル本体の前記収容部を構成する側壁の少なくとも一部は、光透過性を有している、請求項 3 に記載の検出チップ。

【請求項 8】

前記捕捉領域のうちの前記収容部内に露出している領域は、前記収容部の最深部から離れた位置に配置されている、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の検出チップ。

【請求項 9】

前記ウェル本体または前記側壁部材から側方に突出する保持部をさらに有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の検出チップ。

【請求項 10】

上部および側部に開口を有する収容部を含むウェル本体と、被検出物質を捕捉するための捕捉領域とを有し、前記捕捉領域の少なくとも一部は、前記収容部の側部の前記開口を介して前記収容部内に露出している、検出チップと、

前記検出チップに光を照射する光源と、

前記光源が前記検出チップに光を照射したときに、前記検出チップから放出される光を検出する検出部と、

を有する、検出システム。

【請求項 11】

前記検出チップは、前記捕捉領域の前記開口を介して前記収容部内に露出している部分に対応する位置に配置された金属膜を有し、

前記捕捉領域の少なくとも一部は、前記金属膜上に配置されており、

前記検出チップの、前記収容部を構成する側部のうち前記金属膜が配置されている側部および前記捕捉領域の少なくとも一部と対向する側部は、光透過性を有しており、

前記光源は、前記金属膜においてプラズモン共鳴が生じるように、前記金属膜が配置されている側部の内面に光を照射し、

前記検出部は、前記光源が前記金属膜が配置されている側部の内面に光を照射したときに、前記捕捉領域の少なくとも一部に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出され、かつ前記捕捉領域の少なくとも一部と対向する側部を透過した蛍光を検出する、

請求項 10 に記載の検出システム。

【請求項 12】

前記検出チップは、前記捕捉領域の前記開口を介して前記収容部内に露出している部分に対応する位置に配置された、その表面に回折格子が形成されている金属膜を有し、

前記捕捉領域の少なくとも一部は、前記回折格子上に配置されており、

前記検出チップの前記収容部を構成する側部の少なくとも一部は、光透過性を有しており、前記光源は、前記金属膜においてプラズモン共鳴が生じるように、前記回折格子に光を照射し、

前記検出部は、前記光源が前記回折格子に光を照射したときに、前記捕捉領域の少なくとも一部に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出され、かつ光透過性を有する前記側部を透過した蛍光を検出する、

請求項 10 に記載の検出システム。

10

20

30

40

50

【請求項 13】

前記収容部内に収容された液体を攪拌するために前記検出チップを振動させる加振部をさらに有する、請求項 10 ~ 12 のいずれか一項に記載の検出システム。

【請求項 14】

上部および側部に開口を有する収容部を含むウェル本体と、その少なくとも一部が前記収容部の側部の前記開口を介して前記収容部内に露出している捕捉領域と、前記捕捉領域の前記開口を介して前記収容部内に露出している部分に対応する位置に配置された金属膜とを有する検出チップの前記捕捉領域の少なくとも一部に被検出物質を捕捉させる第 1 工程と、

前記検出チップに光を照射するとともに、前記検出チップから放出される光を検出する第 2 工程と、

を有する、検出方法。

【請求項 15】

前記検出チップの、前記収容部を構成する側部のうち前記金属膜が配置されている側部および前記捕捉領域の少なくとも一部と対向する側部は、光透過性を有しており、前記第 1 工程では、前記検出チップの前記捕捉領域の少なくとも一部に被検出物質を捕捉させるとともに、前記捕捉領域の少なくとも一部に捕捉されている前記被検出物質を蛍光物質で標識し、

前記第 2 工程では、前記金属膜においてプラズモン共鳴が生じるように、前記金属膜が配置されている側部の内面に光を照射するとともに、前記捕捉領域の少なくとも一部に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出され、かつ前記捕捉領域の少なくとも一部と対向する側部を透過した蛍光を検出する、

請求項 14 に記載の検出方法。

【請求項 16】

前記金属膜の表面には、回折格子が形成されており、

前記捕捉領域の少なくとも一部は、前記回折格子上に配置されており、

前記検出チップの前記収容部を構成する側部の少なくとも一部は、光透過性を有しており、前記第 1 工程では、前記検出チップの前記捕捉領域の少なくとも一部に被検出物質を捕捉させるとともに、前記捕捉領域の少なくとも一部に捕捉されている前記被検出物質を蛍光物質で標識し、

前記第 2 工程では、前記金属膜においてプラズモン共鳴が生じるように、前記回折格子に光を照射するとともに、前記捕捉領域の少なくとも一部に捕捉されている被検出物質を標識する蛍光物質から放出され、かつ光透過性を有する前記側部を透過した蛍光を検出する、

請求項 14 に記載の検出方法。

【請求項 17】

前記第 1 工程において、前記収容部内に液体が収容されている状態で前記検出チップを振動させる、請求項 14 ~ 16 のいずれか一項に記載の検出方法。

【請求項 18】

上部および側部に開口を有する収容部を含むウェル本体と、

被検出物質を捕捉するための捕捉領域と、

を有し、

前記捕捉領域の少なくとも一部は、前記収容部の側部の前記開口を介して前記収容部内に露出している、

検出チップ。

【請求項 19】

前記収容部の側部の前記開口の少なくとも一部を閉塞する側壁部材を有し、

前記捕捉領域の少なくとも一部は、前記側壁部材の前記収容部の側部の開口の少なくとも一部を閉塞している部分に配置されている、

請求項 18 に記載の検出チップ。

【請求項 20】

10

20

30

40

50

前記側壁部材は、光を入射させるための入射面と前記入射面で入射した光を反射させるための反射面とを含むプリズムと、前記反射面上に配置された金属膜とを有し、
前記捕捉領域は、前記金属膜上に配置されている、
請求項 19 に記載の検出チップ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、被検出物質を検出するための検出チップ、検出システムおよび検出方法に関する。

【背景技術】

【0002】

生化学検査において抗原抗体反応などの生化学反応が利用されている。たとえば、蛍光免疫測定法（以下、「FIA」とも称する）では、被検出物質（抗原）に蛍光物質を含む標識物質を反応させる。その後、蛍光物質で標識された被検出物質に励起光を照射して、蛍光物質が発する蛍光を検出する。そして、検出された蛍光の強度などから、被検出物質の量を特定する。このようなFIAの中でも、特に高感度に被検出物質の検出を行うことが可能な方法として、表面プラズモン励起増強蛍光分光法（Surface Plasmon-field enhanced Fluorescence Spectroscopy、以下「SPFS」とも称する）が知られている（例えば特許文献1参照）。

【0003】

SPFSでは、被検出物質に特異的に結合できる第1の捕捉体（例えば1次抗体）を金属膜上に固定して、被検出物質を捕捉するための反応場を形成する。たとえば、反応場は、ウェル（液体を収容するための有底の凹部）の底面に配置される。特許文献1に記載の検出システムでは、ウェルは、光透過性を有する誘電体部材の上に形成された金属膜上に、貫通孔を有するウェル部材を固定することで形成されており、反応場は、ウェルの底面を構成する金属膜上に配置されている。そして、このウェルに被検出物質を含む液体（検体）を導入することで、第1の捕捉体に被検出物質を結合させる。次いで、蛍光物質で標識された第2の捕捉体（例えば2次抗体）をウェルに導入することで、第1の捕捉体に結合している被検出物質に、第2の捕捉体をさらに結合させる。つまり、被検出物質を、間接的に蛍光物質で標識する。この状態で誘電体部材側から金属膜に励起光を照射すると、蛍光物質が表面プラズモン共鳴（以下、「SPR」とも称する）により増強された電場により励起され、蛍光を放出する。そして、蛍光物質が放出した蛍光を検出することで、被検出物質を検出できる。特許文献1に記載の検出システムでは、蛍光を検出するための検出部は、ウェルの上方に配置されており、ウェル内の液体の液面を通過した蛍光を検出している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【文献】国際公開第2012/157403号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

特許文献1に記載の検出システムでは、ウェルの底面に金属膜および反応場が配置されているため、ウェル内の液体を除去するときに送液器具の先端が金属膜または反応場に接触して、これらが破損してしまうおそれがあった。このため、送液器具の先端をウェルの底面に押し付けることができず、ウェル内の液体を十分に除去することが困難であった。このようにウェル内に液体が残存してしまうと、各種反応が適切に進まず、検出精度が低下してしまうおそれがある。

【0006】

また、特許文献1に記載の検出システムでは、検出部は、ウェルの上方に配置されており

10

20

30

40

50

、ウェル内の液体の液面を通過した蛍光を検出している。このため、ウェルの内径が小さい場合は、蛍光の検出結果がメニスカスの影響を受けてしまう。また、ウェルの内径が大きい場合であっても、蛍光の検出結果が液面上に存在する気泡の影響を受けてしまうおそれがある。

【0007】

本発明の目的は、反応工程中における収容部（ウェル）内の液体の残存による検出精度の低下を抑制することができ、かつ検出工程中における収容部内の液体の液面による検出結果への影響を抑制することができる、被検出物質を検出するための検出チップ、検出システムおよび検出方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明の一実施形態に係る検出チップは、上部および側部に開口を有する収容部を含むウェル本体と、被検出物質を捕捉するための捕捉領域が配置されている側壁部材と、を有し、前記側壁部材は、前記収容部の側部の開口を介して前記捕捉領域の少なくとも一部が前記収容部内に露出し、かつ前記側壁部材が前記収容部の側部の開口の少なくとも一部を閉塞するように、前記ウェル本体に固定されている。

【0009】

また、本発明の一実施形態に係る検出システムは、上部に開口を有する収容部と、前記収容部を構成する側壁の内面上に金属膜を介さずまたは金属膜を介して配置された、被検出物質を捕捉するための反応場とを有する検出チップと、前記反応場に対応する位置の前記側壁の内面においてエバネッセント光が生じるように、または前記金属膜において表面プラズモン共鳴が生じるように外部から前記検出チップに光を照射する光源と、前記光源が前記検出チップに光を照射したときに、前記検出チップから放出される光であって、前記反応場に捕捉されている被検出物質の量に応じて光量に変化する光を検出する検出部と、を有する。

【0010】

また、本発明の一実施形態に係る検出方法は、上部に開口を有する収容部と、前記収容部を構成する側壁の内面上に金属膜を介さずまたは金属膜を介して配置された反応場とを有する検出チップの前記反応場に被検出物質を捕捉させる第1工程と、前記反応場に対応する位置の前記側壁の内面においてエバネッセント光が生じるように、または前記金属膜において表面プラズモン共鳴が生じるように外部から前記検出チップに光を照射するとともに、前記検出チップから放出される光であって、前記反応場に捕捉されている被検出物質の量に応じて光量に変化する光を検出する第2工程と、を有する。

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、反応工程中における収容部内の液体の残存による検出精度の低下を抑制することができ、かつ検出工程中における収容部内の液体の液面による検出結果への影響を抑制することができる、被検出物質を検出するための検出チップ、検出システムおよび検出方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1】図1は、実施の形態1に係る検出システムの構成を示す模式図である。

【図2】図2Aは、実施の形態1に係る検出チップの斜視図であり、図2Bは、ウェル本体の斜視図であり、図2Cは、ウェル本体の斜視透視図である。

【図3】図3Aおよび図3Bは、実施の形態1に係る検出チップに入射する光と検出チップから出射する光を示す模式図である。

【図4】図4は、図3Aの断面図における反応場近傍を拡大した部分拡大断面図である。

【図5】図5A～Dは、反応場と対向する側壁の形状の例を示す検出チップの断面図である。

【図6】図6Aは、第1変形例に係る検出チップの斜視図であり、図6Bは、第1変形例

10

20

30

40

50

に係るウェル本体の斜視図である。

【図 7】図 7 A は、第 2 変形例に係るウェル本体の斜視図であり、図 7 B は、第 2 変形例に係るウェル本体の水平方向に沿う断面図であり、図 7 C は、第 2 変形例に係るウェル本体の底部近傍の高さ方向に沿う断面図である。

【図 8】図 8 A ~ C は、複数の収容部を有する検出チップの例を示す断面図である。

【図 9】図 9 は、実施の形態 1 に係る検出方法のフローチャートであり、検出システムの動作手順の一例を示すフローチャートである。

【図 10】図 10 A および図 10 B は、検出チップを振動させているときの反応場と液面との関係を示す模式図であり、図 10 C および図 10 D は、蛍光を検出するときの反応場と液面との関係を示す模式図である。

10

【図 11】図 11 は、実施の形態 2 に係る検出システムの構成を示す模式図である。

【図 12】図 12 A は、実施の形態 2 に係る検出チップの斜視図であり、図 12 B は、ウェル本体の斜視図であり、図 12 C は、ウェル本体の斜視透視図である。

【図 13】図 13 は、実施の形態 2 に係る検出チップに入射する光と検出チップから出射する光を示す模式図である。

【図 14】図 14 は、図 13 の断面図における反応場近傍を拡大した部分拡大断面図である。

【図 15】図 15 A および図 15 B は、回折格子の斜視図である。

【図 16】図 16 は、実施の形態 2 に係る検出方法のフローチャートであり、検出システムの動作手順の一例を示すフローチャートである。

20

【図 17】図 17 A および図 17 B は、実施の形態 2 に係る検出システムの第 1 変形例を説明するための、検出チップに入射する光と検出チップから出射する光を示す模式図である。

【図 18】図 18 A および図 18 B は、実施の形態 2 に係る検出システムの第 2 変形例を説明するための、検出チップに入射する光と検出チップから出射する光を示す模式図である。

【発明を実施するための形態】

【0013】

以下、本発明の実施の形態について、図面を参照して詳細に説明する。なお、以下の説明では、本発明に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法の一実施の形態として、S P F S により被検出物質を検出する検出チップ、検出システムおよび検出方法について説明するが、本発明に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法はこれに限定されない。

30

【0014】

[実施の形態 1]

実施の形態 1 では、プリズムを利用して S P R を生じさせるプリズム結合型 S P F S (P C - S P F S) により被検出物質を検出する検出チップ、検出システムおよび検出方法について説明する。

【0015】

図 1 は、実施の形態 1 に係る検出システム 100 の構成を示す模式図である。図 1 に示されるように、検出システム 100 は、所定の位置に検出チップ 200 を装着された状態で動作する。検出システム 100 は、検出チップ 200 以外に、励起光照射ユニット 110、蛍光検出ユニット 120、送液ユニット 130、加振部 140、および制御部 150 を有する。検出システム 100 では、所定の位置に検出チップ 200 を装着した状態で、検出チップ 200 の金属膜 225 で表面プラズモン共鳴が発生するように検出チップ 200 に励起光を照射し、金属膜 225 近傍において表面プラズモン共鳴に基づく増強電場を発生させる。そして、当該増強電場により金属膜 225 上の反応場 226 に存在する蛍光物質を励起させ、蛍光物質が発する蛍光を検出することで、検体中の被検出物質の有無や量を測定する。

40

【0016】

以下では、検出チップ 200 について先に説明し、その後、検出システム 100 およびそ

50

の動作（検出方法）について説明する。

【0017】

（検出チップ）

図2A～Cは、実施の形態1に係る検出チップ200の構成を示す模式図である。図2Aは、検出チップ200の斜視図であり、図2Bは、ウェル本体210の斜視図であり、図2Cは、ウェル本体210の斜視透視図である。図3Aおよび図3Bは、検出チップ200に入射する光（励起光）と検出チップ200から出射する光（蛍光およびプラズモン散乱光）を示す模式図である。図3Aは、検出チップ200の高さ方向に沿う断面図であり、図3Bは、検出チップ200の水平方向に沿う断面図である。図3Aおよび図3Bでは、収容部211内に液体（例えば測定用緩衝液）が収容されている状態を示している。図4は、図3Aの断面図における反応場226近傍を拡大した部分拡大断面図である。

10

【0018】

図2A、図3Aおよび図3Bに示されるように、検出チップ200は、ウェル本体210および側壁部材220を有する。

【0019】

ウェル本体210は、その内部に収容部（ウェル）211を有している。収容部211は、液体を収容できるように構成された有底の凹部であり、上部に設けられた第1開口212および側部に設けられた第2開口213により外部に開放されている。第1開口212は、収容部211内に液体を導入したり収容部211内の液体を除去したりする際に利用される。第2開口213は、この後説明する側壁部材220の捕捉領域227を収容部211内に露出させて反応場226を形成するために形成されている（図4参照）。第2開口213は、収容部211内に液体を収容できるように側壁部材220により閉塞される。本実施の形態では、図2Bおよび図2Cに示されるように、第2開口213は、収容部211を構成する4つの側壁のうちの側壁部材220側の側壁に形成された貫通孔である。

20

【0020】

本実施の形態に係る検出チップ200では、反応場226近傍から放出された光（蛍光およびプラズモン散乱光）が、反応場226と対向する側壁を透過し、後述する検出部125により検出される（図1参照）。したがって、検出されるべき光の屈折を抑制したい場合は、図5Aに示されるように、収容部において反応場226（捕捉領域227）と対向する側壁の内面および外面は、いずれも平面であることが好ましい。一方、検出されるべき光を検出部125に向けて集めたい場合は、図5B～Dに示されるように、収容部において反応場226と対向する側壁の内面および外面の少なくとも一方は、凸曲面であることが好ましい。図5Bに示される例では、側壁の内面のみが凸曲面であり、反応場226と対向する側壁は平凸のシリンドリカルレンズとして機能する。図5Cに示される例では、側壁の外面のみが凸曲面であり、反応場226と対向する側壁は平凸のシリンドリカルレンズとして機能する。図5Dに示される例では、側壁の内面および外面がいずれも凸曲面であり、反応場226と対向する側壁は両凸のシリンドリカルレンズとして機能する。

30

【0021】

ウェル本体210の形状は、収容部211、第1開口212および第2開口213を有していれば特に限定されない。図6Aは、第1変形例に係る検出チップ200の斜視図であり、図6Bは、第1変形例に係るウェル本体210の斜視図である。たとえば、図6Aおよび図6Bに示されるように、第2開口213は、側壁部材220側の全面に形成されていてもよく、第1開口212と繋がっていてもよい。この場合も、第2開口213の少なくとも一部は、収容部211内に液体を収容できるように側壁部材220により閉塞される。

40

【0022】

図7Aは、第2変形例に係るウェル本体210の斜視図であり、図7Bは、第2変形例に係るウェル本体210の水平方向に沿う断面図であり、図7Cは、第2変形例に係るウェル本体210の底部近傍の高さ方向に沿う断面図である。たとえば、図7Aに示されるよ

50

うに、ウェル本体 210 は、その上部から側方に突出する保持部 214 をさらに有しているもよい。このように検出チップ 200 が保持部 214 を有している場合、ユーザーおよびシステムは保持部を把持することができるため、検出チップ 200 の取扱いがより容易になる。また、図 7 B に示されるように、収容部 211 を構成する 4 つの側壁のうちの、反応場 227 と対向する側壁以外の側壁の内面の全部または一部は、周方向に曲がった曲面であってもよい。このような構成とすることで、検出チップ 200 に周方向の回転振動を加えた場合に、収容部 211 内の液体を効率よく攪拌することができる。なお、検出チップ 200 に水平方向の往復振動を加える場合は、収容部 211 の水平方向に沿った断面形状は、略多角形状（例えば略正方形）であることが好ましい（図 3 B 参照）。また、図 7 C に示されるように、収容部 211 の底部は、下に凸形状（例えば丸底）であってもよい。このような構成とすることで、収容部 211 内の液体をより確実に除去することが可能となり、検出精度を向上させることができる。

10

【0023】

ウェル本体 210 は、光（少なくとも励起光の波長の光および蛍光の波長の光）に対して透明な材料で形成されている。ただし、後述の検出方法における光の取り出しの妨げにならない限り、ウェル本体 210 の一部は光に対して不透明な材料で形成されていてもよい。少なくとも、収容部 211 を構成する 4 つの側壁のうちの反応場 226 と対向する側壁は、光透過性を有している。光に対して透明な材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。

【0024】

側壁部材 220 は、光学素子としてのプリズム 221、金属膜 225 および反応場 226 を有している。ここで「反応場」とは、金属膜 225 上に配置された捕捉領域 227 のうち、第 2 開口 213 を介して収容部 211 内に露出している領域を意味する（図 4 参照）。図 2 A、図 3 A、図 3 B および図 4 に示されるように、側壁部材 220 は、捕捉領域 227 の少なくとも一部が収容部 211 内に露出して反応場 226 となり、かつ側壁部材 220 が第 2 開口 213 の少なくとも一部を完全に閉塞するようにウェル本体 210 に固定されている。本実施の形態では、側壁部材 220 は、第 2 開口 213 の全部を閉塞するように、両面テープなどの接着層（図示せず）を介してウェル本体 210 に接着されている。側壁部材 220 は、接着層を用いずに、レーザー溶着、超音波溶着、クランプ部材を用いた圧着などにより、ウェル本体 210 に接合されていてもよい。

20

【0025】

プリズム 221 は、励起光に対して透明な誘電体からなる光学素子であり、図 3 B に示されるように、入射面 222、反射面 223 および出射面 224 を有する。プリズム 221 は、収容部 211 を構成する側壁としても機能する。入射面 222 は、励起光照射ユニット 110 からの励起光をプリズム 221 の内部に入射させるための面である。プリズム 221 の内部に入射した励起光は、反射面 223 で反射する。この後説明するように、反射面 223 上には金属膜 225 および捕捉領域 227 が順に配置されている。出射面 224 は、反射面 223 で反射した反射光をプリズム 221 の外部に出射させるための面である。

30

【0026】

プリズム 221 の形状は特に限定されないが、反射面 223 は平面であることが好ましい。プリズム 221 の形状の例には、台形を底面とする柱体、三角柱、半円柱が含まれる。本実施の形態では、プリズム 221 の形状は、台形を底面とする柱体である。台形の一方の底辺に対応する面が反射面 223 であり、一方の脚に対応する面が入射面 222 であり、他方の脚に対応する面が出射面 224 である。

40

【0027】

入射面 222 は、励起光が励起光照射ユニット 110 に戻らないように形成される。励起光の光源がレーザーダイオード（以下「LD」ともいう）である場合、励起光が LD に戻ると、LD の励起状態が乱れてしまい、励起光の波長や出力が変動してしまう。そこで、理想的な共鳴角または増強角を中心とする走査範囲において、励起光が入射面

50

222に垂直に入射しないように、入射面222の角度が設定される。ここで「共鳴角」とは、反射面223（金属膜225）に対する励起光の入射角を走査した場合に、出射面224から出射される反射光の光量が最小となる時の、入射角を意味する。また、「増強角」とは、反射面223（金属膜225）に対する励起光の入射角を走査した場合に、反応場226周辺から収容部211内に放出される励起光と同一波長の散乱光（プラズモン散乱光）の光量が最大となる時の、入射角を意味する。本実施の形態では、入射面222と反射面223との角度および反射面223と出射面224との角度は、いずれも約80°である。

【0028】

なお、検出チップ200の設計により、共鳴角（およびその極近傍にある増強角）が概ね決まる。設計要素は、プリズム221の屈折率や、金属膜225の屈折率、金属膜225の膜厚、金属膜225の消費係数、励起光の波長などである。金属膜225上の反応場226（捕捉領域227）に捕捉された被検出物質によって共鳴角および増強角がシフトするが、その量は数度未満である。

10

【0029】

プリズム221は、複屈折特性を少なからず有する。プリズム221の材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。プリズム221の材料は、好ましくは、屈折率が1.4～1.6であり、かつ複屈折が小さい樹脂である。

【0030】

金属膜225は、プリズム221の反射面223上に配置されている。これにより、反射面223に全反射条件で入射した励起光の光子と、金属膜225中の自由電子との間で相互作用（SPR）が生じ、金属膜225の表面上に局在する増強電場が生じる。

20

【0031】

金属膜225の材料は、表面プラズモン共鳴を生じさせうる金属であれば特に限定されない。金属膜225の材料の例には、金、銀、銅、アルミニウムおよびこれらの合金が含まれる。金属膜225の形成方法は、特に限定されない。金属膜225の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、めっきが含まれる。金属膜225の厚みは、特に限定されないが、30～70nmの範囲内であることが好ましい。

【0032】

反応場226は、収容部211内に露出している、被検出物質を捕捉するための領域である。前述のとおり、反応場226は、金属膜225上に配置された捕捉領域227のうち、第2開口213を介して収容部211内に露出している領域を意味する。図4に示されるように、捕捉領域227の大きさが第2開口213を閉塞することが可能な大きさである場合、反応場226の範囲は、第2開口213により規定される。このような構成とすることで、反応場226の大きさを高精度かつ容易に調整することが可能となる。一方、図6Bに示されるように、第2開口213の大きさが（捕捉領域227よりも）大きい場合は、金属膜225の表面の一部に所定形状の捕捉領域227が形成され、この捕捉領域227がそのまま反応場226となる。

30

【0033】

反応場226は、収容部211の内側面に配置される。このとき、反応場226は、収容部211の最深部から離れた位置に配置されることが好ましい。このような構成とすることで、収容部211内に検体などを導入したときに反応場226において効率よく反応を生じさせることができる。また、蛍光の検出時に、収容部211の底部に起因するノイズが検出結果に混じることを抑制することもできる。

40

【0034】

捕捉領域227は、金属膜225上において被検出物質を捕捉するための第1の捕捉体が固定化されている領域である。第1の捕捉体は、検体中の被検出物質と特異的に結合するための認識部位を有する物質である。反応場226（捕捉領域227）に第1の捕捉体が固定されていると、収容部211内に検体を導入したときに、第1の捕捉体に被検出物質が選択的に結合する。つまり、被検出物質が反応場226に捕捉される。これにより、後

50

述のように被検出物質を検出することが可能となる。第1の捕捉体の種類は、被検出物質に特異的に結合するための認識部位を有していれば特に制限されない。第1の捕捉体の例には、被検出物質に特異的に結合可能な抗体（1次抗体）またはその断片、被検出物質に特異的に結合可能な酵素などが含まれる。

【0035】

検出精度を向上させる観点からは、反応場226となる領域において捕捉領域227が配置されている面は、平面であることが好ましい。すなわち、本実施の形態のように捕捉領域227が金属膜225上に配置されている場合は、金属膜225の表面は平面であることが好ましい。また、本実施の形態の最後に説明するように、捕捉領域227が反射面223上に配置されている場合は、反射面223は平面であることが好ましい。

10

【0036】

なお、図8A～Cに示されるように、検出チップ200は、収容部211以外にも液体を収容可能な第2収容部230をさらに有していてもよい。第2収容部230の用途は、特に限定されない。たとえば、第2収容部230に、反応工程または検出工程で使用される試薬をあらかじめ収容しておいてもよい。また、反応工程または検出工程において、第2収容部230で2種以上の試薬を混合してもよい。第2収容部230の数および位置は、被検出物質の検出の妨げとならなければ特に限定されない。たとえば、図8Aに示されるように、収容部211を構成する4つの側壁のうちの側壁部材220側の側壁に1つの第2収容部230を付加してもよい。また、図8Bに示されるように、収容部211を構成する4つの側壁のうちの反応場226と対向する側壁に1つの第2収容部230を付加してもよい。また、図8Cに示されるように、収容部211を構成する4つの側壁のうちの1つの側壁に複数の第2収容部230を付加してもよい。これらの図に示されるように、収容部211を構成する4つの側壁のうちの側壁部材220側の側壁または反応場226と対向する側壁に第2収容部230を付加した場合、検出チップ200の平面視形状は略長方形となり、複数の検出チップ200を収納容器内に効率よく収容することができる。

20

【0037】

（検出システム）

次に、検出システム100の検出チップ200以外の構成要素について説明する。前述のとおり、検出システム100は、検出チップ200以外に、励起光照射ユニット110、蛍光検出ユニット120、送液ユニット130、加振部140、および制御部150を有する（図1参照）。

30

【0038】

励起光照射ユニット110は、検出チップ200に励起光を照射する。蛍光またはプラズモン散乱光の測定時には、励起光照射ユニット110は、プリズム221の反射面223（金属膜225）に対する入射角が金属膜225でSPRを生じさせる角度となるように、反射面223（金属膜225）に対するP波のみをプリズム221の入射面222に向けて出射する。ここで「励起光」とは、蛍光物質を直接または間接的に励起させる光である。たとえば、励起光は、プリズム221を介して反射面223（金属膜225）に金属膜225でSPRが生じる角度で照射されたときに、蛍光物質を励起させる増強電場を金属膜225の表面上に生じさせる光である。励起光照射ユニット110は、光源ユニット111および第1角度調整部112を含む。

40

【0039】

光源ユニット111は、コリメートされ、かつ波長および光量が一定の励起光を、反射面223（金属膜225の表面）における照射スポットの形状が略円形となるように出射する。照射スポットの大きさは、検出チップ200の反応場226よりも小さいことが好ましい。光源ユニット111は、例えば、励起光の光源、ビーム整形光学系、APC機構および温度調整機構（いずれも不図示）を含む。

【0040】

光源の種類は、特に限定されず、例えばレーザーダイオード（LD）である。光源の他の例には、発光ダイオード、水銀灯、その他のレーザー光源が含まれる。光源から出射され

50

る光がビームでない場合は、光源から出射される光は、レンズや鏡、スリットなどによりビームに変換される。また、光源から出射される光が単色光でない場合は、光源から出射される光は、回折格子などにより単色光に変換される。さらに、光源から出射される光が直線偏光でない場合は、光源から出射される光は、偏光子などにより直線偏光の光に変換される。

【0041】

ビーム整形光学系は、例えば、コリメーターやバンドパスフィルター、直線偏光フィルター、半波長板、スリット、ズーム手段などを含む。ビーム整形光学系は、これらのすべてを含んでいてもよいし、一部を含んでいてもよい。コリメーターは、光源から出射された励起光 をコリメートする。バンドパスフィルターは、光源から出射された励起光 を中心波長のみ狭帯域光にする。光源からの励起光 は、若干の波長分布幅を有しているためである。直線偏光フィルターは、光源から出射された励起光 を完全な直線偏光の光にする。半波長板は、反射面 223 に P 波成分が入射するように励起光 の偏光方向を調整する。スリットおよびズーム手段は、反射面 223 における照射スポットの形状が所定サイズの円形となるように、励起光 のビーム径や輪郭形状などを調整する。

10

【0042】

A P C 機構は、光源の出力が一定となるように光源を制御する。より具体的には、A P C 機構は、励起光 から分岐させた光の光量を不図示のフォトダイオードなどで検出する。そして、A P C 機構は、帰回路で投入エネルギーを制御することで、光源の出力を一定に制御する。

20

【0043】

温度調整機構は、例えば、ヒーターやペルチェ素子などである。光源の出射光の波長およびエネルギーは、温度によって変動することがある。このため、温度調整機構で光源の温度を一定に保つことにより、光源の出射光の波長およびエネルギーを一定に制御する。

【0044】

第 1 角度調整部 112 は、反射面 223 に対する励起光 の入射角を調整する。第 1 角度調整部 112 は、プリズム 221 を介して反射面 223 の所定の位置に向けて所定の入射角で励起光 を照射するために、励起光 の光軸と検出チップ 200 とを相対的に回転させる。

【0045】

たとえば、第 1 角度調整部 112 は、光源ユニット 111 を励起光 の光軸と直交する軸（検出チップ 200 の高さ方向に沿う軸）を中心として回動させる（図 3 B 参照）。このとき、入射角を走査しても反射面 223 での照射スポットの位置がほとんど変化しないように、回転軸の位置を設定する。

30

【0046】

前述のとおり、反射面 223（金属膜 225）に対する励起光 の入射角のうち、プラズモン散乱光 の光量が最大となる角度が増強角である。励起光 の入射角を増強角またはその近傍の角度（例えば共鳴角）に設定することで、高強度の蛍光 を測定することが可能となる。検出チップ 200 のプリズム 221 の材料および形状、金属膜 225 の膜厚、収容部 211 内の液体の屈折率などにより、励起光 の基本的な入射条件が決まるが、使用する蛍光物質の種類および量、プリズム 221 の形状誤差などにより、最適な入射条件はわずかに変動する。このため、検出ごとに最適な増強角を求めることが好ましい。

40

【0047】

蛍光検出ユニット 120 は、反射面 223（金属膜 225）への励起光 の照射によって生じた蛍光 を検出する。また、必要に応じて、蛍光検出ユニット 120 は、反射面 223（金属膜 225）への励起光 の照射によって生じたプラズモン散乱光 も検出する。蛍光検出ユニット 120 は、第 1 レンズ 121、光学フィルター 122、第 2 レンズ 123、位置切替部 124 および検出部 125 を含む。

【0048】

第 1 レンズ 121 は、例えば、集光レンズであり、反応場 226 近傍から出射される光を

50

集光する。第2レンズ123は、例えば、結像レンズであり、第1レンズ121で集光された光を検出部125の受光面に結像させる。両レンズの間の光路は、略平行な光路になっている。光学フィルター122は、両レンズの間に配置されている。

【0049】

光学フィルター122は、蛍光成分のみを検出部125に導き、高いS（シグナル）/N（ノイズ）比で蛍光を検出するために、励起光成分（プラズモン散乱光）を除去する。光学フィルター122の例には、励起光反射フィルター、短波長カットフィルターおよびバンドパスフィルターが含まれる。光学フィルター122は、例えば、所定の光成分を反射する多層膜を含むフィルター、または所定の光成分を吸収する色ガラスフィルターである。

10

【0050】

位置切替部124は、光学フィルター122の位置を、第1レンズ121および第2レンズ123間の光路上または光路外に切り替える。具体的には、検出部125が蛍光を検出する時には、光学フィルター122を光路上に配置し、検出部125がプラズモン散乱光を検出する時には、光学フィルター122を光路外に配置する。

【0051】

検出部125は、蛍光およびプラズモン散乱光を検出する受光センサーである。検出部125は、微量の被検出物質からの微弱な蛍光を検出することが可能な、高い感度を有する。検出部125は、例えば、光電子増倍管（PMT）やアバランシェフォトダイオード（APD）などである。

20

【0052】

図1および図3Aに示されるように、本実施の形態では、光源ユニット111からの励起光は水平方向に進行して、検出チップ200に到達する。また、反応場226近傍から放出され、水平方向に進行した光（蛍光およびプラズモン散乱光）が検出部125により検出される。したがって、本実施の形態では、光源ユニット111および検出部125は、検出チップ200と同じ高さに配置されている。もちろん、ミラーなどを用いれば光源ユニット111および検出部125の位置は自由に変更可能であるが、小型化の観点からは、光源ユニット111および検出部125は、検出チップ200と同じ高さに配置されていることが好ましい。

【0053】

送液ユニット130は、検出チップ200の収容部211内に各種液体を導入する。また、送液ユニット130は、検出チップ200の収容部211内から各種液体を除去する。本実施の形態では、送液ユニット130は、例えば検体や、蛍光物質で標識された第2の捕捉体を含む標識液（以下「標識液」ともいう）、洗浄液、測定用緩衝液などの注入および吸引を行う。送液ユニット130は、液体チップ131、ピペット132およびピペット制御部136を含む。

30

【0054】

液体チップ131は、検体や標識液、洗浄液、測定用緩衝液などの液体をそれぞれ収容するための容器である。液体チップ131としては、通常、複数の容器が液体の種類に応じて配置されるか、または複数の容器が一体化したチップが配置される。なお、図8A～Cに示されるように、検出チップ200が第2収容部230を有している場合は、第2収容部230は液体チップ131として機能しうる。この場合は、送液ユニット130は、液体チップ131を有していなくてもよい。

40

【0055】

ピペット132は、シリンジポンプ133と、シリンジポンプ133に接続されたノズルユニット134と、ノズルユニット134の先端に装着されたピペットチップ135とを有する。シリンジポンプ133内のプランジャーの往復運動によって、ピペットチップ135における液体の吸引および排出が定量的に行われる。

【0056】

ピペット制御部136は、シリンジポンプ133の駆動装置、およびノズルユニット13

50

4の移動装置を含む。シリンジポンプ133の駆動装置は、シリンジポンプ133のプランジャーを往復運動させるための装置であり、例えば、ステッピングモーターを含む。ノズルユニット134の移動装置は、例えば、ノズルユニット134を、垂直方向と水平方向との二方向に自在に動かす。ノズルユニット134の移動装置は、例えば、ロボットアーム、2軸ステージまたは上下動自在なターンテーブルによって構成される。

【0057】

ピペット制御部136は、シリンジポンプ133を駆動して、液体チップ131から各種液体をピペットチップ135内に吸引させる。そして、ピペット制御部136は、ノズルユニット134を移動させて、検出チップ200の収容部211内に第1開口212からピペットチップ135を挿入させるとともに、シリンジポンプ133を駆動して、ピペットチップ135内の液体を収容部211内に注入させる。また、液体の導入後、ピペット制御部136は、シリンジポンプ133を駆動して、収容部211内の液体をピペットチップ135内に吸引させる。このように収容部211内の液体を順次交換することによって、反応場226において第1の捕捉体と被検出物質を反応させたり(1次反応)、被検出物質と蛍光物質で標識された第2の捕捉体とを反応させたりする(2次反応)。

10

【0058】

加振部140は、収容部211内の液体を攪拌するために検出チップ200を振動させる。このように検出チップ200を振動させて収容部211内の液体を攪拌することで、反応場226における1次反応や2次反応、洗浄などを効率的に行うことができる。加振部140は、例えば piezo素子や偏芯させた回転体などである。加振部140は、励起光、蛍光 およびプラズモン散乱光 の光路を妨げない位置に配置される。

20

【0059】

加振部140により検出チップ200に加えられる振動の方向は、特に限定されない。振動方向の例には、水平方向や垂直方向(高さ方向)、周方向などが挙げられる。たとえば、加振部140としての piezo素子を検出チップ200の側面に接触させた状態で piezo素子を駆動することで、検出チップ200に水平方向の往復振動を加えることができる。また、加振部140としての piezo素子を検出チップ200の底面に接触させた状態で piezo素子を駆動することで、検出チップ200に垂直方向の往復振動を加えることができる。また、加振部140としての偏芯させた回転体を検出チップ200の底面に接触させた状態で回転体を回転させることで、検出チップ200に周方向の回転振動を加えることができる。収容部211内の液体を効率よく攪拌する観点からは、収容部211内に液体が収容されている状態の検出チップ200の固有振動数、またはその前後の振動周波数で検出チップ200を振動させることが好ましい。また、異なる固有振動数(n 次の固有振動数および m 次の固有振動数、 n および m は正の整数)を順次切り替えながら検出チップ200を振動させてもよい。

30

【0060】

制御部150は、光源ユニット111、第1角度調整部112、位置切替部124、検出部125、ピペット制御部136、加振部140を制御する。制御部150は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

40

【0061】

なお、本実施の形態では、励起光 を照射されうる位置に配置された検出チップ200に対して、送液ユニット130による液体の導入および除去、ならびに加振部140による振動の印加を行うことができるように、送液ユニット130および加振部140が配置されているが、送液ユニット130および加振部140の位置はこれに限定されない。たとえば、検出チップ200が第1の位置に配置されている場合に、送液ユニット130による液体の導入および除去、ならびに加振部140による振動の印加が行われ、検出チップ200が第2の位置に配置されている場合に、励起光照射ユニット110による励起光の照射および蛍光検出ユニット120による蛍光 の検出が行われてもよい。この場合は、検出システム100は、検出チップ200を第1の位置および第2の位置に移動させる

50

ための搬送ユニットをさらに有する。

【 0 0 6 2 】

(検出方法)

次に、検出システム 1 0 0 を用いた被検出物質の検出方法について説明する。図 9 は、本実施の形態の検出方法を行う際の検出システム 1 0 0 の動作手順の一例を示すフローチャートである。

【 0 0 6 3 】

まず、検出の準備をする (工程 S 1 0) 。具体的には、検出システム 1 0 0 の所定の位置に検出チップ 2 0 0 を設置する。また、検出チップ 2 0 0 の反応場 2 2 6 上に保湿剤が存在する場合には、収容部 2 1 1 内を洗浄して反応場 2 2 6 上の保湿剤を除去する。この後、制御部 1 5 0 は、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内に測定用緩衝液を導入させる。

10

【 0 0 6 4 】

次いで、検出チップ 2 0 0 の反射面 2 2 3 (金属膜 2 2 5) に対する励起光 の入射角を増強角に設定する (工程 S 2 0) 。具体的には、制御部 1 5 0 は、光源ユニット 1 1 1 および第 1 角度調整部 1 1 2 を制御して、励起光 を反射面 2 2 3 の反応場 2 2 6 に対応する位置に照射させながら、反射面 2 2 3 に対する励起光 の入射角を走査する。これと同時に、制御部 1 5 0 は、検出部 1 2 5 を制御して、プラズモン散乱光 を検出させる。このとき、制御部 1 5 0 は、位置切替部 1 2 4 を制御して、光学フィルター 1 2 2 を光路外に移動させる。制御部 1 5 0 は、励起光 の入射角とプラズモン散乱光 の強度との関係を含むデータを得る。そして、制御部 1 5 0 は、データを解析して、プラズモン散乱光 の強度が最大となる入射角 (増強角) を決定する。最後に、制御部 1 5 0 は、第 1 角度調整部 1 1 2 を制御して、反射面 2 2 3 に対する励起光 の入射角を増強角に設定する。

20

【 0 0 6 5 】

増強角は、プリズム 2 2 1 の素材および形状、金属膜 2 2 5 の厚み、収容部 2 1 1 内の液体の屈折率などにより決まるが、収容部 2 1 1 内の液体の種類および量、プリズム 2 2 1 の形状誤差などの各種要因によりわずかに変動する。このため、検出を行うたびに増強角を決定することが好ましい。増強角は、 0.1° 程度のオーダーで決定される。

【 0 0 6 6 】

次いで、光学ブランク値を測定する (工程 S 3 0) 。具体的には、制御部 1 5 0 は、光源ユニット 1 1 1 を制御して、励起光 を反射面 2 2 3 の反応場 2 2 6 に対応する位置に照射させる。これと同時に、制御部 1 5 0 は、検出部 1 2 5 を制御して、蛍光 と同じ波長の背景光の光量を検出させる。このとき、制御部 1 5 0 は、位置切替部 1 2 4 を制御して、光学フィルター 1 2 2 を光路上に移動させる。制御部 1 5 0 は、測定された背景光の光量をブランク値として記録する。

30

【 0 0 6 7 】

次いで、検出チップ 2 0 0 の収容部 2 1 1 内に検体を導入し、反応場 2 2 6 の第 1 の捕捉体に、検体中に含まれる被検出物質を特異的に結合させる (1 次反応 (工程 S 4 0)) 。具体的には、制御部 1 5 0 は、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の測定緩衝液を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に検体を導入させる。また、制御部 1 5 0 は、加振部 1 4 0 を制御して、検出チップ 2 0 0 を振動させて収容部 2 1 1 内の検体を攪拌させる。このとき、反応を適切に進行させる観点からは、図 1 0 A および図 1 0 B に示されるように、反応場 2 2 6 は、収容部 2 1 1 内の液体 (検体) の振動している液面 2 4 0 よりも常に下に位置することが好ましい。さらに、反応効率を上げる観点からは、図 1 0 A よりも図 1 0 B に示されるように、反応場 2 2 6 は、振動している液面 2 4 0 に近いことがより好ましい。また、液体 (検体) の飛散を防止する観点からは、静置している状態における液面 2 4 0 の高さが、収容部 2 1 1 の深さ (高さ) の $2/3$ 以下であることが好ましく、 $1/2$ 以下であることがより好ましい。この後、制御部 1 5 0 が、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の検体を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に洗浄液を導入させて、収容部 2 1 1 内を洗浄する。このときも、制御部 1 5 0 は、加振部

40

50

140を制御して、検出チップ200を振動させて収容部211内の洗浄液を攪拌させる。
【0068】

検体および被検出物質の種類は、特に限定されない。検体の例には、血液や血清、血漿、脳脊髄液、尿、鼻孔液、唾液、精液などの体液、組織抽出液、およびこれらの希釈液が含まれる。またこれらの検体に含まれる被検出物質の例には、核酸（DNAやRNAなど）、タンパク質（ポリペプチドやオリゴペプチドなど）、アミノ酸、糖質、脂質およびこれらの修飾分子が含まれる。

【0069】

次いで、金属膜225上の第1の捕捉体に結合した被検出物質に、蛍光物質で標識された第2の捕捉体を結合させる（2次反応（工程S50））。ここで、第2の捕捉体は、被検出物質の、第1の捕捉体が特異的に結合する部位とは異なる部位に、特異的に結合する物質である。また、第2の捕捉体には、蛍光物質が結合している。したがって、標識液を収容部211内に提供すると、第1の捕捉体に結合している被検出物質に第2の捕捉体の特異的に結合し、被検出物質が、間接的に蛍光物質で標識される。第2の捕捉体は、第1の捕捉体が被検出物質に特異的に結合する部位とは異なる部位に、特異的に結合する物質であればよく、被検出物質に特異的な生体分子であってもよく、その断片などであってもよい。また、第2の捕捉体は、1分子からなるものであってもよく、2以上の分子が結合した複合体であってもよい。

【0070】

具体的には、制御部150は、ピペット制御部136を制御して、収容部211内の洗浄液を除去させるとともに、収容部211内に第2の捕捉体を含む標識液を導入させる。また、制御部150は、加振部140を制御して、検出チップ200を振動させて収容部211内の標識液を攪拌させる。このときも、反応を適切に進行させる観点からは、図10Aおよび図10Bに示されるように、反応場226は、収容部211内の液体（標識液）の振動している液面240よりも常に下に位置することが好ましい。さらに、反応効率を上げる観点からは、図10Aよりは図10Bに示されるように、反応場226は、振動している液面240に近いことがより好ましい。また、液体（標識液）の飛散を防止する観点からは、静置している状態における液面240の高さが、収容部211の深さ（高さ）の2/3以下であることが好ましく、1/2以下であることがより好ましい。この後、制御部150は、ピペット制御部136を制御して、収容部211内の標識液を除去させるとともに、収容部211内に洗浄液を導入させて、収容部211内を洗浄する。このときも、制御部150は、加振部140を制御して、検出チップ200を振動させて収容部211内の洗浄液を攪拌させる。さらに、制御部150は、ピペット制御部136を制御して、収容部211内の洗浄液を除去させるとともに、収容部211内に測定用緩衝液を導入させる。

【0071】

次いで、被検出物質を標識する蛍光物質からの蛍光値を測定する（工程S60）。具体的には、制御部150は、光源ユニット111を制御して、励起光を反射面223の反応場226に対応する位置に照射させる。これと同時に、制御部150は、検出部125を制御して、蛍光と同じ波長の光の光量を検出させる。このとき、制御部150は、位置切替部124を制御して、光学フィルター122を光路上に移動させる。制御部150は、測定された光量を蛍光値として記録する。このときも、蛍光を適切に検出する観点からは、図10Cおよび図10Dに示されるように、反応場226は、収容部211内の液体（測定用緩衝液）の液面240よりも下に位置することが好ましい。一方で、図10Cに示されるように、反応場226と液面240とが接近していると、液面240で反射または屈折した蛍光までも第1レンズ121に到達して、検出部125により検出されてしまうおそれがある。このような液面240の影響を受けた蛍光を検出することは、検出精度の低下に繋がる。したがって、検出精度を上げる観点からは、図10Cよりは図10Dに示されるように、反応場226は、液面240から遠いことが好ましい。前述のとおり、反応場226において反応させる第1工程（1次反応（工程S40））および2次反

10

20

30

40

50

応（工程 S 5 0））では、反応効率を上げる観点からは、液面 2 4 0 はある程度低いことが好ましいが、一方で、反応場に捕捉されている被検出物質の量に応じて光量に変化する光を検出する第 2 工程（蛍光値の測定（工程 S 6 0））では、検出精度を上げる観点からは、液面 2 4 0 がある程度高いことが好ましい。これらを両立するために、第 2 工程における収容部 2 1 1 内の液体の量（図 1 0 D 参照）を、第 1 工程における収容部 2 1 1 内の液体の量（図 1 0 B 参照）よりも多くしてもよい。

【 0 0 7 2 】

最後に、被検出物質の存在または量を算出する（工程 S 7 0）。蛍光値は、主として、被検出物質を標識する蛍光物質に由来する蛍光成分（シグナル値）と、光学ブランク値とを含む。したがって、制御部 1 5 0 は、工程 S 6 0 で得られた蛍光値から工程 S 3 0 で得られた光学ブランク値を引くことで、被検出物質の量に相関するシグナル値を算出することができる。そして、あらかじめ作成しておいた検量線により、被検出物質の量や濃度などに換算する。

10

【 0 0 7 3 】

以上の手順により、検体に含まれる被検出物質の存在または量を検出することができる。

【 0 0 7 4 】

なお、上記の説明では、工程 S 2 0 において励起光の入射角を増強角に設定したが、工程 S 2 0 では励起光の入射角を共鳴角に設定してもよい。この場合は、反射面 2 2 3 に対する励起光の入射角を走査するとともに、別途設置された反射光検出部により励起光の反射光の光量を検出する。そして、反射光の光量が最小となったときの励起光の入射角を共鳴角として決定する。

20

【 0 0 7 5 】

（効果）

以上のように、本実施の形態に係る検出チップ 2 0 0、検出システム 1 0 0 および検出方法によれば、収容部 2 1 1 内の液体の液面を透過させずに蛍光を検出するため、液面および気泡による検出結果への影響を抑制して、被検出物質を高い信頼性で検出することができる。

【 0 0 7 6 】

また、本実施の形態に係る検出チップ 2 0 0、検出システム 1 0 0 および検出方法によれば、反応場 2 2 6 が収容部 2 1 1 の底面ではなく側面に配置されているため、収容部 2 1 1 内の液体を除去するときにピペットチップ 1 3 5 を収容部 2 1 1 の底面に接触させて収容部 2 1 1 内の液体をほぼ完全に除去することができる。これにより、収容部 2 1 1 内における検体や標識液、洗浄液の残液量が低減するため、その次に行われる反応部 2 2 6 における反応、または収容部 2 1 1 内の洗浄を、効率よく行うことができる。これらの観点からも、被検出物質を高い信頼性で検出することができる。

30

【 0 0 7 7 】

なお、本実施の形態では、P C - S P F S を利用した検出チップ、検出システムおよび検出方法について説明したが、本実施の形態に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法は、これに限定されない。たとえば、本実施の形態に係る検出チップおよび検出システムは、S P R 法を利用した検出方法にも適用できる。この場合、検出部 1 2 5 は、検出チップ 2 0 0 から放出される光であって反応場 2 2 6 に捕捉されている被検出物質の量に応じて光量に変化する光として、蛍光ではなくプリズム 2 2 1 の反射面 2 2 3 で反射した励起光を検出する。また、本実施の形態に係る検出チップおよび検出システムは、S P R を利用することなく被検出物質を標識する蛍光物質をエバネッセント光で励起するエバネッセント蛍光法を利用した検出方法にも適用できる。この場合、捕捉領域 2 2 7（反応場 2 2 6）は、プリズム 2 2 1 の反射面 2 2 3 上に金属膜を介さずに直接配置される。光源ユニット 1 1 1 が励起光を反射面 2 2 3（側壁の内面）の反応場 2 2 6 に対応する位置に照射すると、反射面 2 2 3 においてエバネッセント光が生じ、当該エバネッセント光により反応場 2 2 6 に存在する蛍光物質が励起され、蛍光を放出する。検出部 1 2 5 は、検出チップ 2 0 0 から放出される光であって反応場 2 2 6 に捕捉されている被検出物質

40

50

の量に応じて光量が変化する光として、この蛍光 を検出する。

【 0 0 7 8 】

[実施の形態 2]

実施の形態 2 では、回折格子を利用して S P R を生じさせる回折格子結合型 S P F S (G C - S P F S) により被検出物質を検出する検出チップ、検出システムおよび検出方法について説明する。

【 0 0 7 9 】

図 1 1 は、実施の形態 2 に係る検出システム 3 0 0 の構成を示す模式図である。図 1 1 に示されるように、検出システム 3 0 0 は、所定の位置に検出チップ 4 0 0 を装着された状態で動作する。検出システム 3 0 0 は、検出チップ 4 0 0 以外に、励起光照射ユニット 3 1 0、蛍光検出ユニット 3 2 0、送液ユニット 1 3 0、加振部 1 4 0、および制御部 3 5 0 を有する。実施の形態 2 に係る検出システム 3 0 0 では、所定の位置に検出チップ 4 0 0 を装着した状態で、検出チップ 4 0 0 の回折格子 4 2 8 (金属膜 4 2 5) で表面プラズモン共鳴が発生するように検出チップ 4 0 0 に励起光 を照射し、回折格子 4 2 8 近傍において表面プラズモン共鳴に基づく増強電場を発生させる。そして、当該増強電場により回折格子 4 2 8 上の反応場 4 2 6 に存在する蛍光物質を励起させ、蛍光物質が発する蛍光を検出することで、検体中の被検出物質の有無や量を測定する。

10

【 0 0 8 0 】

実施の形態 2 に係る検出システム 3 0 0 は、主として、検出チップ 4 0 0 が光学素子として回折格子 4 2 8 を有する点、および励起光照射ユニット 3 1 0 が回折格子 4 2 8 に励起光 を照射することで S P R を生じさせる点で、実施の形態 1 に係る検出システム 1 0 0 と異なる。そこで、実施の形態 1 に係る検出システム 1 0 0 と同じ構成要素については同一の符号を付し、説明を省略する。以下では、検出チップ 4 0 0 について先に説明し、その後、検出システム 3 0 0 およびその動作 (検出方法) について説明する。

20

【 0 0 8 1 】

(検出チップ)

図 1 2 A ~ C は、実施の形態 2 に係る検出チップ 4 0 0 の構成を示す模式図である。図 1 2 A は、検出チップ 4 0 0 の斜視図であり、図 1 2 B は、ウェル本体 2 1 0 の斜視図であり、図 1 2 C は、ウェル本体 2 1 0 の斜視透視図である。図 1 3 は、検出チップ 4 0 0 に入射する光 (励起光) と検出チップ 4 0 0 から出射する光 (励起光の反射光 および蛍光) を示す模式図である。図 1 3 は、検出チップ 4 0 0 の高さ方向に沿う断面図であり、収容部 2 1 1 内に液体 (例えば測定用緩衝液) が収容されている状態を示している。図 1 4 は、図 1 3 の断面図における反応場 4 2 6 近傍を拡大した部分拡大断面図である。

30

【 0 0 8 2 】

図 1 2 A、図 1 3 に示されるように、検出チップ 4 0 0 は、ウェル本体 2 1 0 および側壁部材 4 2 0 を有する。

【 0 0 8 3 】

ウェル本体 2 1 0 は、実施の形態 1 に係る検出チップ 2 0 0 のウェル本体 2 1 0 と同一である。ウェル本体 2 1 0 は、その内部に収容部 (ウェル) 2 1 1 を有している。収容部 2 1 1 は、液体を収容できるように構成された有底の凹部であり、上部に設けられた第 1 開口 2 1 2 および側部に設けられた第 2 開口 2 1 3 により外部に開放されている。

40

【 0 0 8 4 】

ウェル本体 2 1 0 は、光 (少なくとも励起光 の波長の光および蛍光 の波長の光) に対して透明な材料で形成されている。ただし、後述の検出方法における光の取り出しの妨げにならない限り、ウェル本体 2 1 0 の一部は光に対して不透明な材料で形成されていてもよい。少なくとも、収容部 2 1 1 を構成する側壁の一部は、光透過性を有している。本実施の形態では、少なくとも、収容部 2 1 1 を構成する 4 つの側壁のうちの反応場 4 2 6 と対向する側壁は、光透過性を有している。光に対して透明な材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。

【 0 0 8 5 】

50

本実施の形態に係る検出チップ400では、励起光照射ユニット310から出射された光（励起光）と、反応場426近傍から放出され検出部125により検出される光（励起光の反射光'および蛍光）が、いずれも反応場426と対向する側壁を透過する（図11参照）。したがって、これらの光の屈折を抑制したい場合は、図13に示されるように、収容部において反応場426（捕捉領域427）と対向する側壁の内面および外面は、いずれも平面であることが好ましい。

【0086】

側壁部材420は、基板421、金属膜425および反応場426を有している。前述のとおり、「反応場」とは、金属膜425上に配置された捕捉領域427のうち、第2開口213を介して収容部211内に露出している領域を意味する（図14参照）。本実施の形態では、金属膜425の表面において反応場426に対応する部分の少なくとも一部には、光学素子としての回折格子428が形成されている。図12A、図13および図14に示されるように、側壁部材420は、捕捉領域427の少なくとも一部が収容部211内に露出して反応場426となり、かつ側壁部材420が第2開口213の少なくとも一部を完全に閉塞するようにウェル本体210に固定されている。

10

【0087】

基板421は、金属膜425を支持するとともに、ウェル本体210の第2開口213を閉塞するための部材である。基板421は、収容部211を構成する側壁としても機能する。基板421の形状および材料は、上記機能を実現可能であれば特に限定されない。基板421の材料の例には、樹脂およびガラスが含まれる。本実施の形態では、基板421は、樹脂板である。

20

【0088】

金属膜425は、基板421のウェル本体210側の面上に配置されている。前述のとおり、金属膜425には、光学素子としての回折格子428が形成されている。金属膜425は、基板421のウェル本体210側の表面の全体に形成されていてもよいし、一部のみ形成されていてもよい。また、回折格子428は、金属膜425のウェル本体210側の表面の全体に形成されていてもよいし、一部のみ形成されていてもよい。回折格子428は、金属膜425の表面において反応場426に対応する部分の少なくとも一部に形成されている。回折格子428に光を照射すると、金属膜425中に生じる表面プラズモンと、回折格子428により生じるエバネッセント光とが結合してSPRが生じ、金属膜425の表面上に局在する増強電場が生じる。金属膜425の材料は、SPRを生じさせる金属であれば特に限定されない。金属膜425の材料の例には、金、銀、銅、アルミニウムおよびこれらの合金が含まれる。金属膜425の形成方法は、特に限定されない。金属膜425の形成方法の例には、スパッタリング、蒸着、めっきが含まれる。金属膜425の厚みは、特に限定されないが、30~70nmの範囲内であることが好ましい。

30

【0089】

回折格子428は、金属膜425に光を照射された時に、エバネッセント光を生じさせる。回折格子428の形状は、エバネッセント光を生じさせることができれば特に限定されない。たとえば、回折格子428は、図15Aに示されるように1次元回折格子であってもよいし、図15Bに示されるように2次元回折格子であってもよい。図15Aに示される1次元回折格子では、金属膜425の表面に、互いに平行な複数の凸条が所定の間隔で形成されている。図15Bに示される2次元回折格子では、金属膜425の表面に、所定形状の凸部が周期的に配置されている。凸部の配列の例には、正方格子、三角（六方）格子などが含まれる。回折格子428の断面形状の例には、矩形波形状、正弦波形状、鋸歯形状などが含まれる。回折格子のピッチは、SPRを発生させる観点から、100~2000nmの範囲が好ましい。ここで「回折格子のピッチ」とは、図15A、Bに示されるように、凸部の配列方向における凸部の中心間距離をいう。なお、本実施の形態では、凸部の配列方向が収容部211の深さ方向に沿うように、回折格子428が配置される。

40

【0090】

回折格子428の形成方法は、特に限定されない。たとえば、平板状の基板421の上に

50

金属膜 4 2 5 を形成した後、金属膜 4 2 5 に凹凸形状を付与してもよい。また、予め凹凸形状を付与された基板 4 2 1 の上に、金属膜 4 2 5 を形成してもよい。いずれの方法であっても、回折格子 4 2 8 を含む金属膜 4 2 5 を形成することができる。

【 0 0 9 1 】

反応場 4 2 6 は、収容部 2 1 1 内に露出している、被検出物質を捕捉するための領域である。前述のとおり、反応場 4 2 6 は、金属膜 4 2 5 上に配置された捕捉領域 4 2 7 のうち、第 2 開口 2 1 3 を介して収容部 2 1 1 内に露出している領域を意味する。本実施の形態では、反応場 4 2 6 の少なくとも一部は、回折格子 4 2 8 の上に位置する。

【 0 0 9 2 】

反応場 4 2 6 は、収容部 2 1 1 の内側面に配置される。このとき、反応場 4 2 6 は、収容部 2 1 1 の最深部から離れた位置に配置されることが好ましい。このような構成とすることで、収容部 2 1 1 内に検体などを導入したときに反応場 4 2 6 において効率よく反応を生じさせることができる。また、蛍光の検出時に、収容部 2 1 1 の底部に起因するノイズが検出結果に混じることを抑制することもできる。

10

【 0 0 9 3 】

捕捉領域 4 2 7 は、金属膜 4 2 5 上において被検出物質を捕捉するための第 1 の捕捉体が固定化されている領域である。第 1 の捕捉体の種類は、被検出物質に特異的に結合するための認識部位を有していれば特に制限されない。第 1 の捕捉体の例には、被検出物質に特異的に結合可能な抗体（1 次抗体）またはその断片、被検出物質に特異的に結合可能な酵素などが含まれる。

20

【 0 0 9 4 】

なお、実施の形態 1 と同様に、検出チップ 4 0 0 は、収容部 2 1 1 以外にも液体を収容可能な第 2 収容部 2 3 0 をさらに有していてもよい（図 8 A ~ C 参照）。

【 0 0 9 5 】

（検出システム）

次に、検出システム 3 0 0 の検出チップ 4 0 0 以外の構成要素について説明する。前述のとおり、検出システム 3 0 0 は、検出チップ 4 0 0 以外に、励起光照射ユニット 3 1 0、蛍光検出ユニット 3 2 0、送液ユニット 1 3 0、加振部 1 4 0、および制御部 3 5 0 を有する（図 1 1 参照）。送液ユニット 1 3 0 および加振部 1 4 0 は、実施の形態 1 に係る検出システム 1 0 0 の送液ユニット 1 3 0 および加振部 1 4 0 と同一である。

30

【 0 0 9 6 】

励起光照射ユニット 3 1 0 は、ウェル本体 2 1 0 の側壁および収容部 2 1 1 を介して回折格子 4 2 8 に励起光を照射する。励起光の反射光' または蛍光の測定時には、励起光照射ユニット 3 1 0 は、回折格子 4 2 8（金属膜 4 2 5）に対する入射角が回折格子 4 2 8 で S P R を生じさせる角度となるように、回折格子 4 2 8（金属膜 4 2 5）に対する P 波のみを回折格子 4 2 8 に向けて出射する。このとき、励起光照射ユニット 3 1 0 は、励起光の光軸および反射光' の光軸を含む平面が回折格子の凸部の配列方向に沿うように回折格子 4 2 8 に励起光を照射する。前述のとおり、「励起光」とは、蛍光物質を直接または間接的に励起させる光である。たとえば、励起光は、回折格子 4 2 8 で S P R が生じる角度で回折格子 4 2 8 に照射されたときに、蛍光物質を励起させる増強電場を回折格子 4 2 8 上に生じさせる光である。励起光照射ユニット 3 1 0 は、光源ユニット 1 1 1 および第 1 角度調整部 1 1 2 を含む。光源ユニット 1 1 1 および第 1 角度調整部 1 1 2 は、実施の形態 1 に係る検出システム 1 0 0 の光源ユニット 1 1 1 および第 1 角度調整部 1 1 2 と同一である。

40

【 0 0 9 7 】

回折格子 4 2 8 に対する励起光の入射角は、S P R により形成される増強電場の強度が最も強くなり、その結果として蛍光物質からの蛍光の強度が最も強くなる角度が好ましい。励起光の入射角は、回折格子 4 2 8 のピッチや励起光の波長、金属膜 4 2 5 を構成する金属の種類などに応じて適切に選択される。たとえば、励起光の入射角は、以下の式（1）を満たすように設定される。

50

【数 1】

$$k_{sp} = k_0 \sin \theta + \frac{2\pi m}{\Lambda} \quad \dots \text{式 (1)}$$

k_0 : 励起光 の波数 = $2\pi / (\lambda_0 / n)$

λ_0 : 真空中の励起光 の波長

n : 回折格子 4 2 8 上の媒質 (収容部 2 1 1 内の液体) の屈折率

θ : 励起光 の回折格子 4 2 8 に対する入射角

m : 整数

Λ : 回折格子 4 2 8 のピッチ

【0098】

ここで、 k_{sp} は、2 種類の媒質の界面 (金属膜 4 2 5 と収容部 2 1 1 内の液体との界面) において励起されるプラズモンの波数であり、以下の式 (2) のように定義される。

【数 2】

$$k_{sp} = \frac{\omega}{c} \cdot \sqrt{\frac{\epsilon_1 \cdot \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}} \quad \dots \text{式 (2)}$$

ω : 励起光 の角周波数

c : 光速度

ϵ_1 : 回折格子 4 2 8 上の媒質 (収容部 2 1 1 内の液体) の誘電率 = n^2

ϵ_2 : 回折格子 4 2 8 を構成する媒質 (金属) の誘電率

【0099】

励起光 の最適な入射角は、各種条件の変更により変わるため、第 1 角度調整部 1 1 2 は、励起光 の光軸と回折格子 4 2 8 とを相対的に回転させることで入射角を調整する。

【0100】

蛍光検出ユニット 3 2 0 は、回折格子 4 2 8 への励起光 の照射によって生じ、収容部 2 1 1 およびウェル本体 2 1 0 の側壁を透過した蛍光 を検出する。また、必要に応じて、蛍光検出ユニット 3 2 0 は、回折格子 4 2 8 への励起光 の照射によって生じ、収容部 2 1 1 およびウェル本体 2 1 0 の側壁を透過した励起光 の反射光 ' も検出する。蛍光検出ユニット 3 2 0 は、光学フィルター 1 2 2、位置切替部 1 2 4、検出部 1 2 5 および第 2 角度調整部 3 2 6 を含む。光学フィルター 1 2 2、位置切替部 1 2 4 および検出部 1 2 5 は、実施の形態 1 に係る検出システム 1 0 0 の光学フィルター 1 2 2、位置切替部 1 2 4 および検出部 1 2 5 と同一である。蛍光検出ユニット 3 2 0 は、検出部 1 2 5 の検出範囲を拡げるために集光レンズをさらに有していてもよいが、バックグラウンドの低減の観点からは集光レンズを含まない方が好ましい。

【0101】

第 2 角度調整部 3 2 6 は、蛍光検出ユニット 3 2 0 の光軸と回折格子 4 2 8 とを相対的に回転させることで蛍光検出ユニット 3 2 0 の光軸の角度を調整する。たとえば、第 2 角度調整部 3 2 6 は、蛍光検出ユニット 3 2 0 の光軸と金属膜 4 2 5 との交点を中心として、検出部 1 2 5 を回転させる。第 2 角度調整部 3 2 6 が検出部 1 2 5 の位置を適宜調整することで、反応場 4 2 6 (回折格子 4 2 8) から放出され、収容部 2 1 1 およびウェル本体

10

20

30

40

50

210の側壁を透過した蛍光の強度が最大となる角度（蛍光ピーク角）で、蛍光検出ユニット320は蛍光を検出することができる。また、光源ユニット111を移動させて励起光の入射角を調整しているときに、光源ユニット111の位置に合わせて検出部125を移動させて反射光を検出することができる。

【0102】

制御部350は、光源ユニット111、第1角度調整部112、位置切替部124、検出部125、第2角度調整部326、ピペット制御部136、加振部140を制御する。制御部350は、例えば、演算装置、制御装置、記憶装置、入力装置および出力装置を含む公知のコンピュータやマイコンなどによって構成される。

【0103】

なお、本実施の形態では、励起光を照射されうる位置に配置された検出チップ400に対して、送液ユニット130による液体の導入および除去、ならびに加振部140による振動の印加を行うことができるように、送液ユニット130および加振部140が配置されているが、送液ユニット130および加振部140の位置はこれに限定されない。たとえば、検出チップ400が第1の位置に配置されている場合に、送液ユニット130による液体の導入および除去、ならびに加振部140による振動の印加が行われ、検出チップ400が第2の位置に配置されている場合に、励起光照射ユニット310による励起光の照射および蛍光検出ユニット320による蛍光の検出が行われてもよい。この場合は、検出システム300は、検出チップ400を第1の位置および第2の位置に移動させるための搬送ユニットをさらに有する。

【0104】

（検出方法）

次に、検出システム300を用いた被検出物質の検出方法について説明する。図16は、本実施の形態の検出方法を行う際の検出システム300の動作手順の一例を示すフローチャートである。

【0105】

まず、検出の準備をする（工程S110）。具体的には、検出システム300の所定の位置に検出チップ400を設置する。また、検出チップ400の反応場426上に保湿剤が存在する場合には、収容部211内を洗浄して反応場426上の保湿剤を除去する。この後、制御部350は、ピペット制御部136を制御して、収容部211内に測定用緩衝液を導入させる。

【0106】

次いで、検出チップ400の回折格子428（金属膜425）に対する励起光の入射角を共鳴角に設定する（工程S120）。具体的には、制御部350は、光源ユニット111および第1角度調整部112を制御して、励起光を回折格子428に照射させながら、回折格子428に対する励起光の入射角を走査する。これと同時に、制御部350は、検出部125および第2角度調整部326を制御して、励起光の反射光を検出させる。このとき、制御部350は、位置切替部124を制御して、光学フィルター122を光路外に移動させる。制御部350は、励起光の入射角と反射光の強度との関係を含むデータを得る。そして、制御部350は、データを解析して、反射光の強度が最小となる入射角（共鳴角）を決定する。最後に、制御部350は、第1角度調整部112を制御して、回折格子428に対する励起光の入射角を共鳴角に設定する。

【0107】

次いで、光学ブランク値を測定する（工程S130）。具体的には、制御部350は、光源ユニット111を制御して、励起光を回折格子428に照射させる。これと同時に、制御部350は、検出部125および第2角度調整部326を制御して、蛍光と同じ波長の背景光の光量を検出させる。このとき、制御部350は、位置切替部124を制御して、光学フィルター122を光路上に移動させる。また、制御部350は、第2角度調整部326を制御して、金属膜425の垂線に対する蛍光検出ユニット320の光軸の角度を適切な角度（好ましくは工程S160における蛍光ピーク角）にする。たとえば、金属

10

20

30

40

50

膜 4 2 5 の垂線に対する蛍光検出ユニット 3 2 0 の光軸の角度は、金属膜 4 2 5 に対する励起光 の入射角の 2 倍程度であればよい。制御部 3 5 0 は、測定された背景光の光量をブランク値として記録する。

【 0 1 0 8 】

次いで、検出チップ 4 0 0 の収容部 2 1 1 内に検体を導入し、反応場 4 2 6 の第 1 の捕捉体に、検体中に含まれる被検出物質を特異的に結合させる（ 1 次反応（工程 S 1 4 0 ））。具体的には、制御部 3 5 0 は、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の測定緩衝液を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に検体を導入させる。また、制御部 3 5 0 は、加振部 1 4 0 を制御して、検出チップ 4 0 0 を振動させて収容部 2 1 1 内の検体を攪拌させる。この後、制御部 3 5 0 が、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の検体を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に洗浄液を導入させて、収容部 2 1 1 内を洗浄する。このときも、制御部 3 5 0 は、加振部 1 4 0 を制御して、検出チップ 4 0 0 を振動させて収容部 2 1 1 内の洗浄液を攪拌させる。実施の形態 1 に係る検出システム 1 0 0 と同様に、検体および被検出物質の種類は、特に限定されない。

10

【 0 1 0 9 】

次いで、回折格子 4 2 8 上の第 1 の捕捉体に結合した被検出物質に、蛍光物質で標識された第 2 の捕捉体を結合させる（ 2 次反応（工程 S 1 5 0 ））。これにより、被検出物質が間接的に蛍光物質で標識される。具体的には、制御部 3 5 0 は、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の洗浄液を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に第 2 の捕捉体を含む標識液を導入させる。また、制御部 3 5 0 は、加振部 1 4 0 を制御して、検出チップ 4 0 0 を振動させて収容部 2 1 1 内の標識液を攪拌させる。この後、制御部 3 5 0 は、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の標識液を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に洗浄液を導入させて、収容部 2 1 1 内を洗浄する。このときも、制御部 3 5 0 は、加振部 1 4 0 を制御して、検出チップ 4 0 0 を振動させて収容部 2 1 1 内の洗浄液を攪拌させる。さらに、制御部 3 5 0 は、ピペット制御部 1 3 6 を制御して、収容部 2 1 1 内の洗浄液を除去させるとともに、収容部 2 1 1 内に測定用緩衝液を導入させる。

20

【 0 1 1 0 】

次いで、被検出物質を標識する蛍光物質からの蛍光値を測定する（工程 S 1 6 0 ）。具体的には、制御部 3 5 0 は、光源ユニット 1 1 1 を制御して、励起光 を、ウェル本体 2 1 0 の側壁および収容部 2 1 1 内の測定用緩衝液を介して回折格子 4 2 8 （反応場 4 2 6 ）に照射させる。これと同時に、制御部 3 5 0 は、検出部 1 2 5 および第 2 角度調整部 3 2 6 を制御して、蛍光 と同じ波長の光（その大部分は収容部 2 1 1 内の測定用緩衝液およびウェル本体 2 1 0 の側壁を透過してきた蛍光 ）の光量を検出させる。このとき、制御部 3 5 0 は、位置切替部 1 2 4 を制御して、光学フィルター 1 2 2 を光路上に移動させる。また、制御部 3 5 0 は、第 2 角度調整部 3 2 6 を制御して、金属膜 4 2 5 の垂線に対する蛍光検出ユニット 3 2 0 の光軸の角度を適切な角度（好ましくは蛍光ピーク角）にする。たとえば、金属膜 4 2 5 の垂線に対する蛍光検出ユニット 3 2 0 の光軸の角度は、金属膜 4 2 5 に対する励起光 の入射角の 2 倍程度であればよい。制御部 3 5 0 は、測定された光量を蛍光値として記録する。

30

【 0 1 1 1 】

最後に、被検出物質の存在または量を算出する（工程 S 1 7 0 ）。蛍光値は、主として、被検出物質を標識する蛍光物質に由来する蛍光成分（シグナル値）と、光学ブランク値とを含む。したがって、制御部 3 5 0 は、工程 S 1 6 0 で得られた蛍光値から工程 S 1 3 0 で得られた光学ブランク値を引くことで、被検出物質の量に相関するシグナル値を算出することができる。そして、あらかじめ作成しておいた検量線により、被検出物質の量や濃度などに換算する。

40

【 0 1 1 2 】

以上の手順により、検体に含まれる被検出物質の存在または量を検出することができる。

【 0 1 1 3 】

（効果）

50

以上のように、本実施の形態に係る検出チップ400、検出システム300および検出方法によれば、収容部211内の液体の液面を透過させずに蛍光を検出するため、液面および気泡による検出結果への影響を抑制して、被検出物質を高い信頼性で検出することができる。

【0114】

また、本実施の形態に係る検出チップ400、検出システム300および検出方法によれば、反応場426が収容部211の底面ではなく側面に配置されているため、収容部211内の液体を除去するときにピペットチップ135を収容部211の底面に接触させて収容部211内の液体をほぼ完全に除去することができる。これにより、収容部211内における検体や標識液、洗浄液の残液量が低減するため、その次に行われる反応部426における反応、または収容部211内の洗浄を、効率よく行うことができる。これらの観点からも、被検出物質を高い信頼性で検出することができる。

10

【0115】

なお、本実施の形態では、励起光の光軸および反射光の光軸を含む平面が収容部211の深さ方向に沿うように回折格子428に励起光を照射する検出チップ、検出システムおよび検出方法について説明したが、本実施の形態に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法は、これに限定されない。たとえば、図17Aおよび図17Bに示されるように、本実施の形態に係る検出システムは、励起光の光軸および反射光の光軸を含む平面が水平方向に沿うように回折格子428に励起光を照射してもよい。この場合、凸部の配列方向が水平方向に沿うように回折格子428が配置され、蛍光も水平方向に沿って放出される。したがって、光源ユニット111および検出部125は、検出チップ400と同じ高さに配置されうる。また、この場合、収容部211の形状によっては、収容部211を構成する4つの側壁のうちの反応場426が配置されている側の側壁および反応場426と対向する側壁以外の2つの側壁のうちの一方を透過させて励起光を照射し、他方を透過させて蛍光を検出することもできる。もちろん、収容部211の形状によっては、収容部211を構成する4つの側壁のうちの反応場426と対向する側壁を透過させて励起光を照射し、蛍光を検出することもできる。

20

【0116】

また、本実施の形態では、収容部211側から回折格子428に励起光を照射する検出チップ、検出システムおよび検出方法について説明したが、本実施の形態に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法は、これに限定されない。たとえば、図18Aおよび図18Bに示されるように、本実施の形態に係る検出システムは、基板421側から回折格子428に励起光を照射してもよい（例えば以下の非特許文献1を参照）。このように基板421側から回折格子428に励起光を照射した場合、励起光の一部は金属膜425を透過して回折格子428に到達し、SPRを生じさせる。そして、SPRにより増強された電場により蛍光物質が励起され、所定の方向に指向性を持った蛍光が出射される。したがって、光源ユニット111および検出部125は、検出チップ400と同じ高さに配置されうるが、検出チップ400は、光源ユニット111および検出部125の間に位置することとなる（図1参照）。なお、図18Aおよび図18Bに示される例では、凸部の配列方向が水平方向に沿うように回折格子428が配置され、蛍光も水平方向に沿って放出される。また、このように基板421側から回折格子428に励起光を照射する場合、基板421は、励起光に対して透明な誘電体からなることが好ましく、回折格子428は金属膜425の両面に形成されていることが好ましい。基板421の材料の例には、励起光に対して透明な樹脂およびガラスが含まれる。たとえば、樹脂からなる基板421の表面にUV樹脂を用いたナノインプリントにより回折格子を形成し、その上に金属膜425を形成することで、金属膜425の両面に回折格子428を形成することができる。また、このように基板421側から回折格子428に励起光を照射する場合、工程S20では励起光の入射角を共鳴角に設定してもよいが、励起光の入射角を増強角に設定してもよい。励起光の入射角を増強角に設定する場合は、金属膜425に対する励起光の入射角を走査するとともに、回折格子428から放出されたプラズモン散

30

40

50

乱光の光量を検出部125により検出する。そして、プラズモン散乱光の光量が最大となったときの励起光の入射角を増強角として決定する。

非特許文献1：Tawa K., et al., "Zinc Oxide-Coated Plasmonic Chip Modified with a Bispecific Antibody for Sensitive Detection of a Fluorescent Labeled-Antigen", Anal. Chem., Vol. 83, pp. 5944-5948.

【0117】

[その他の実施の形態]

上記各実施の形態では、側壁部材220が光学素子としてプリズム221を含む検出チップ200または側壁部材220が光学素子として回折格子428を含む検出チップ400を用いた態様について説明したが、検出チップは、他の光学素子を含んでいてもよい。検出チップが含みうる光学素子の例には、プリズム、微細な凸部または凹部が周期的に配列されている部材（例えば、回折格子やナノホールアレイ、ナノ粒子層など）、光導波路（光ファイバーを含む）、光反射部材が含まれる。光学素子の種類に関わらず、反応場は、直接、または他の部材（例えば金属膜）を介して光学素子の上に配置される。

10

【0118】

実施の形態1で説明したように、側壁部材がプリズムを含む場合は、PC-SPPSやSPR法、エバネッセント蛍光法などを利用して被検出物質を検出することができる。この場合、反応場は、金属膜を介して、または金属膜を介さずに、プリズムの反射面上に配置される。

【0119】

また、実施の形態2で説明したように、側壁部材が、微細な凸部または凹部が周期的に配列されており、かつその表面が金属で被覆されている回折格子を含む場合は、GC-SPPSなどを利用して被検出物質を検出することができる。この場合、反応場は、回折格子上に配置される。

20

【0120】

一方、側壁部材が、金属膜にナノサイズの貫通孔が所定の間隔で設けられているナノホールアレイを含む場合は、SPRを利用した検出方法などを利用して被検出物質を検出することができる（例えば以下の非特許文献2を参照）。この場合、ナノホールアレイは、第2開口を介して収容部内に露出しており、反応場は、ナノホールアレイ上に配置される。

非特許文献2：De Leebeeck A., et al., "On-Chip Surface-Based Detection with Nanohole Arrays", Anal. Chem., Vol. 79, pp. 4094-4100.

30

【0121】

また、側壁部材が、金属で被覆されたナノ粒子が配列されているナノ粒子層を含む場合は、局在表面プラズモン共鳴(LSPR)を利用した検出方法などを利用して被検出物質を検出することができる（例えば以下の非特許文献3を参照）。この場合、ナノ粒子層は、第2開口を介して収容部内に露出しており、反応場は、ナノ粒子層上に配置される。

非特許文献3：Kurita M., "Precious Metals for Localized Surface Plasmon Resonance Measurement Applications", J. Surf. Finish. Soc. Jpn., Vol. 62, pp. 306-308.

【0122】

また、側壁部材が光ファイバーを含む場合は、SPRを利用した検出方法やエバネッセント光を利用した検出方法などを利用して被検出物質を検出することができる（例えば以下の非特許文献4および非特許文献5を参照）。この場合、光ファイバーの側面の少なくとも一部は、第2開口を介して収容部内に露出しており、反応場は、金属膜を介して収容部内に露出している光ファイバーの側面上に配置される。

40

非特許文献4：Slavik R., et al., "A miniature fiber optic surface plasmon resonance sensor for fast detection of staphylococcal enterotoxin B", Biosensors and Bioelectronics, Vol. 17, pp. 591-595.

非特許文献5：Tsunoda K., "Waveguide Chemical- and Bio-Sensors Using Evanescent Wave", Kogaku (Japanese Journal of Optics: Publication of the Optical Society of Japan), Vol. 34, pp. 513-517.

50

【 0 1 2 3 】

また、側壁部材が光導波路を含む場合は、エバネッセント光を利用した検出方法などを利用して被検出物質を検出することができる（例えば以下の非特許文献6を参照）。この場合、光導波路の側面の少なくとも一部は、第2開口を介して収容部内に露出しており、反応場は、収容部内に露出している光導波路の側面上に配置される。

非特許文献6：Higashino I., "光導波路センサを用いた小型臨床検査装置用の簡易定量検査技術", Toshiba Review, Vol. 67, pp. 60-61.

【 0 1 2 4 】

また、側壁部材が光反射部材を含む場合は、反射干渉分光法（R I f S）を利用した検出方法などを利用して被検出物質を検出することができる（例えば以下の非特許文献7を参照）。この場合、光反射部材は、第2開口を介して収容部内に露出しており、反応場は、光反射部材上に配置される。

非特許文献7：Kurihara Y. et al., "The Promise of Expanding Areas of Application for Reflectometric Interference Spectroscopy", Konica Minolta Technology Report, Vol. 9, pp. 29-35.

【 0 1 2 5 】

本出願は、2016年7月28日出願の特願2016-148345に基づく優先権を主張する。当該出願明細書および図面に記載された内容は、すべて本願明細書に援用される。

【 産業上の利用可能性 】

【 0 1 2 6 】

本発明に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法によれば、反応工程中における収容部内の液体の残存による検出精度の低下を抑制することができ、かつ検出工程中における収容部内の液体の液面による影響を抑制して被検出物質を高い信頼性で検出することができる。したがって、本発明に係る検出チップ、検出システムおよび検出方法は、例えば臨床検査などに有用である。

【 符号の説明 】

【 0 1 2 7 】

- 100、300 検出システム
- 110、310 励起光照射ユニット
- 111 光源ユニット
- 112 第1角度調整部
- 120、320 蛍光検出ユニット
- 121 第1レンズ
- 122 光学フィルター
- 123 第2レンズ
- 124 位置切替部
- 125 検出部
- 130 送液ユニット
- 131 液体チップ
- 132 ピペット
- 133 シリンジポンプ
- 134 ノズルユニット
- 135 ピペットチップ
- 136 ピペット制御部
- 140 加振部
- 150、350 制御部
- 200、400 検出チップ
- 210 ウェル本体
- 211 収容部
- 212 第1開口

10

20

30

40

50

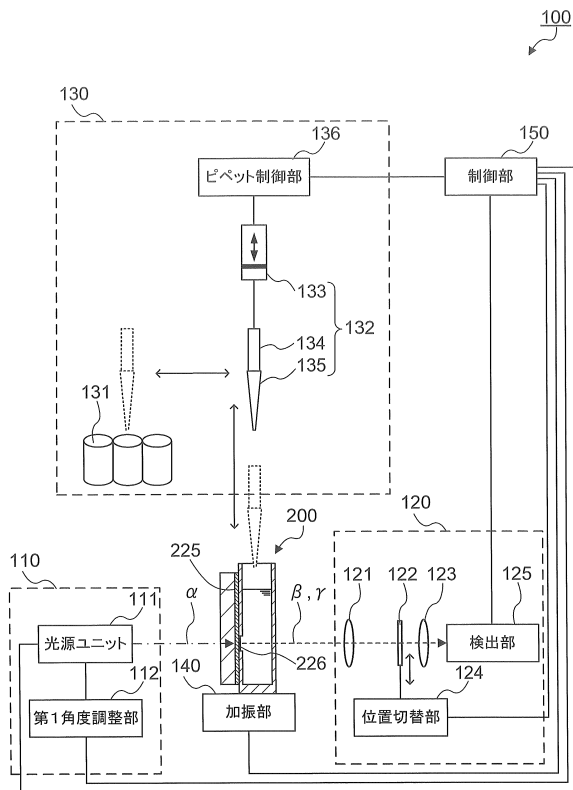
- 2 1 3 第 2 開口
- 2 1 4 保持部
- 2 2 0、4 2 0 側壁部材
- 2 2 1 プリズム
- 2 2 2 入射面
- 2 2 3 反射面
- 2 2 4 出射面
- 2 2 5、4 2 5 金属膜
- 2 2 6、4 2 6 反応場
- 2 2 7、4 2 7 捕捉領域
- 2 3 0 第 2 収容部
- 2 4 0 液面
- 3 2 6 第 2 角度調整部
- 4 2 1 基板
- 4 2 8 回折格子
- 励起光
- ' 励起光の反射光
- 蛍光
- プラズモン散乱光

10

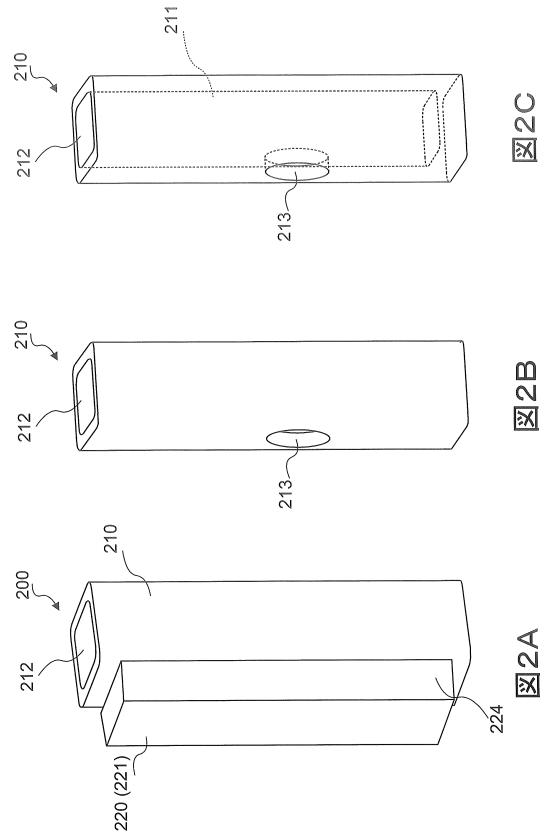
【 図 面 】

20

【 図 1 】



【 図 2 】



30

40

50

【 図 3 】

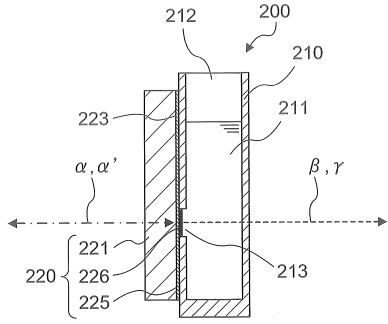


図3A

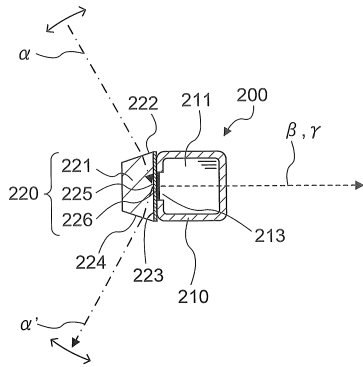
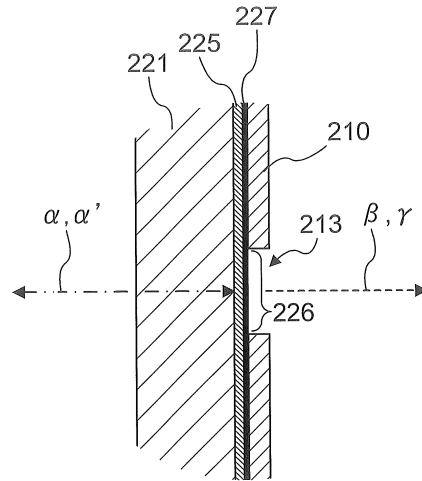


図3B

【 図 4 】



10

20

【 図 5 】

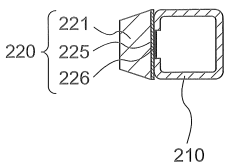


図5A

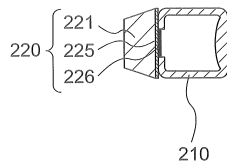


図5B

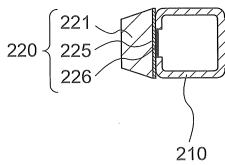


図5C

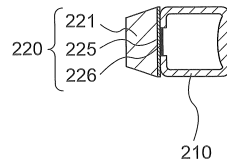


図5D

【 図 6 】

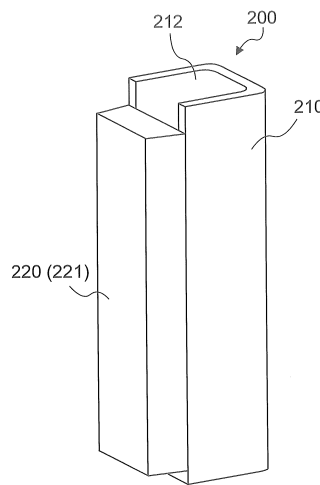


図6A

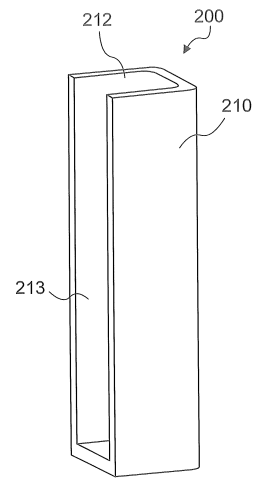


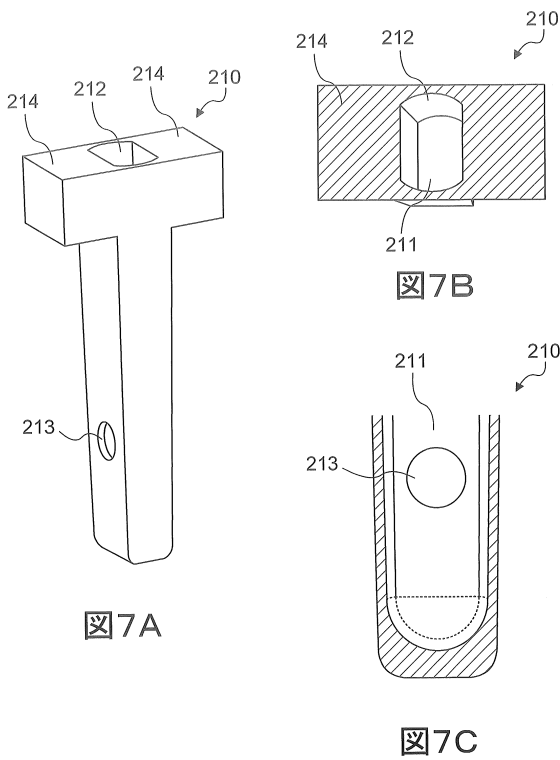
図6B

30

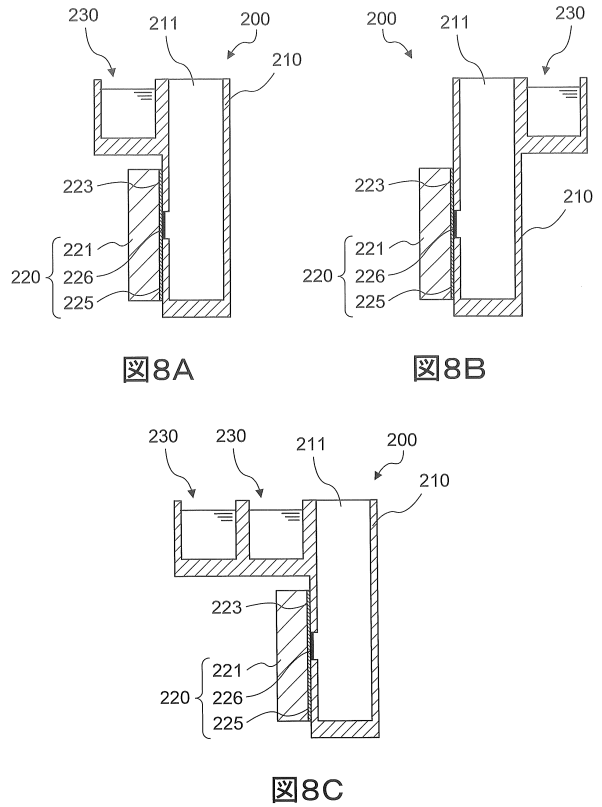
40

50

【図7】



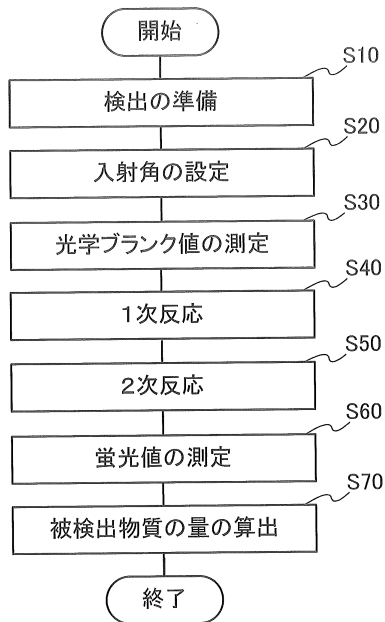
【図8】



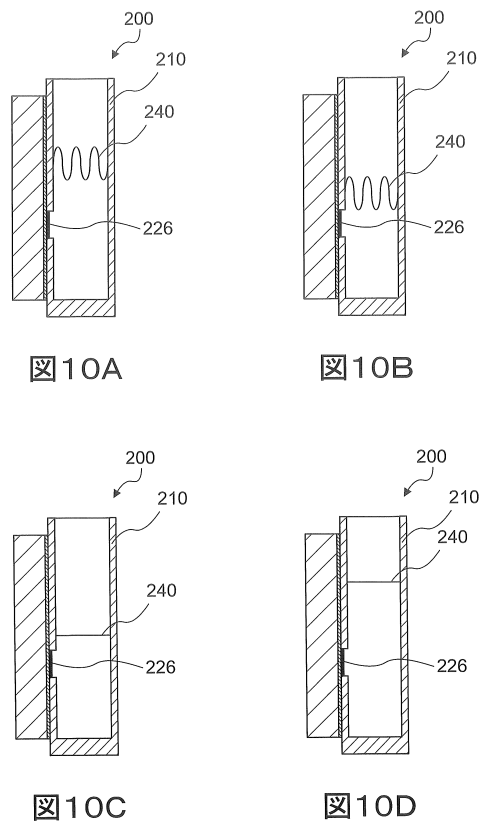
10

20

【図9】



【図10】

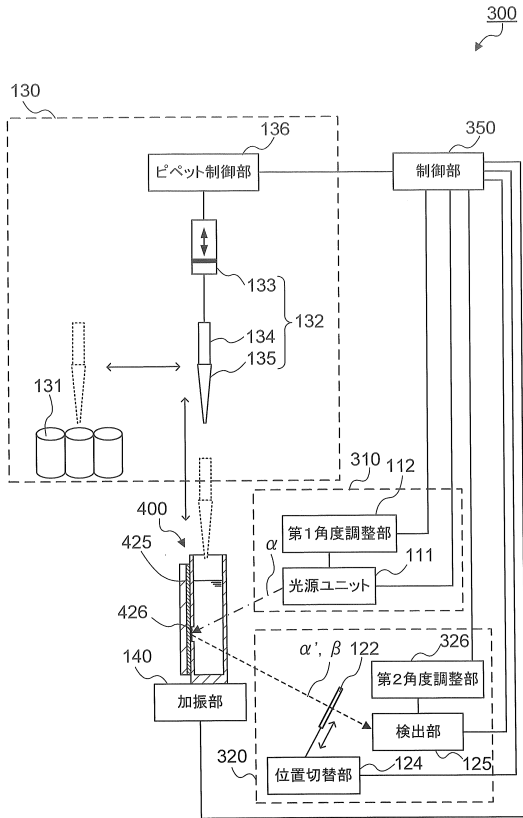


30

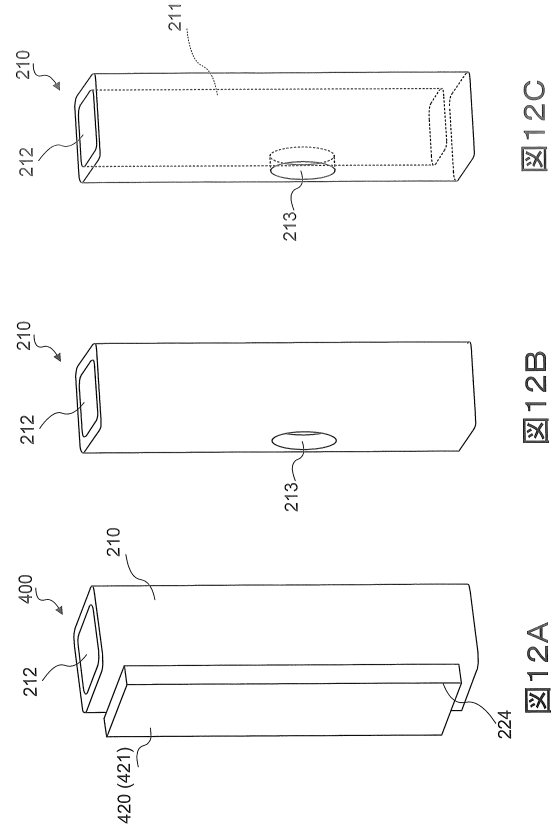
40

50

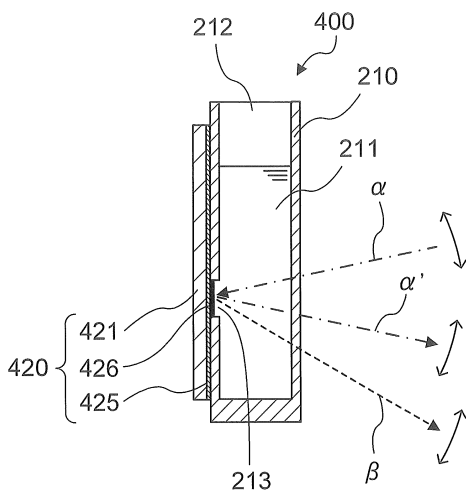
【図11】



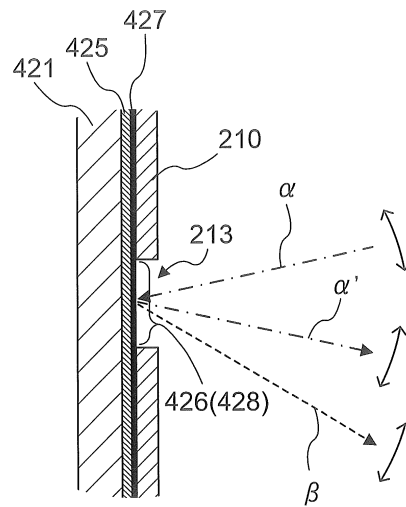
【図12】



【図13】



【図14】



10

20

30

40

50

【図15】

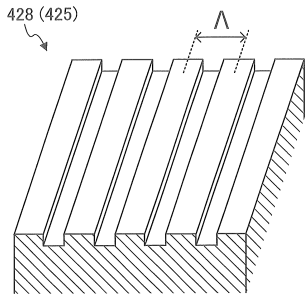


図15A

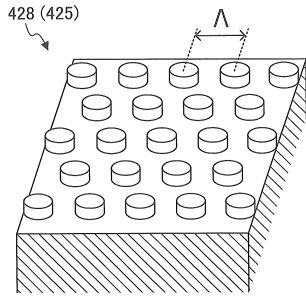
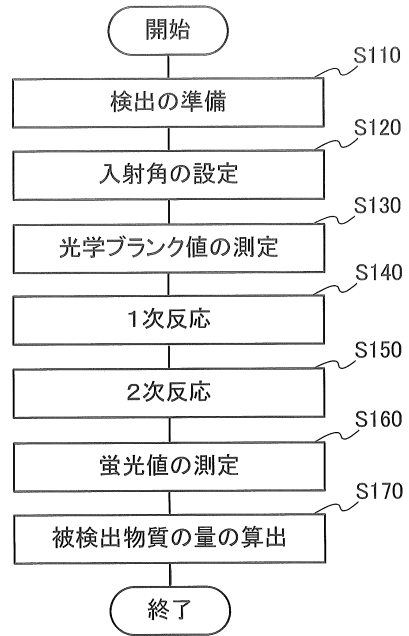


図15B

【図16】



10

20

【図17】

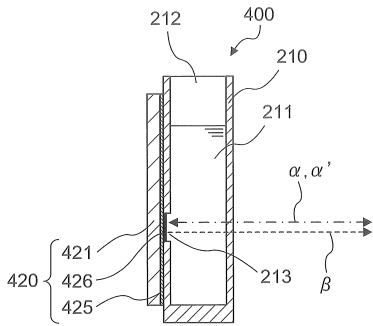


図17A

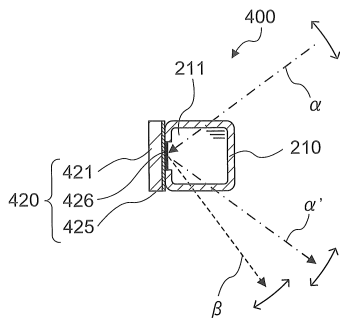


図17B

【図18】

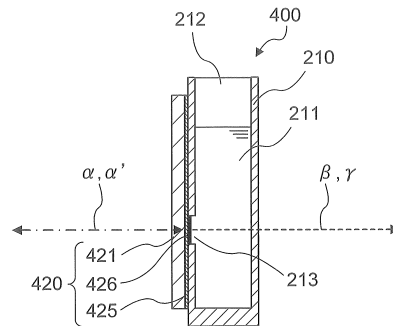


図18A

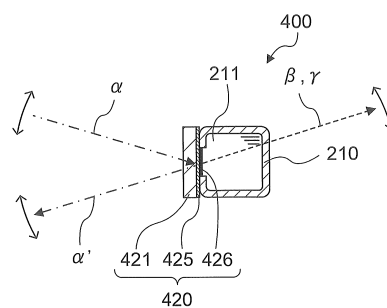


図18B

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

G 0 1 N	33/543	5 9 5
G 0 1 N	33/543	5 7 5

用を受ける特許出願

東京都千代田区丸の内二丁目7番2号 コニカミノルタ株式会社内

審査官 伊藤 裕美

(56)参考文献

特開2007-047004(JP,A)
特表2002-516993(JP,A)
米国特許出願公開第2008/0131939(US,A1)
特開2015-111063(JP,A)
国際公開第2015/068813(WO,A1)
国際公開第2012/157403(WO,A1)
特開2016-121936(JP,A)
特開2006-090758(JP,A)
特表2002-513936(JP,A)
特表2004-500571(JP,A)
特開2013-148518(JP,A)
米国特許第06843963(US,B1)
国際公開第2016/093037(WO,A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

G 0 1 N 2 1 / 0 0 - G 0 1 N 2 1 / 8 3
G 0 1 N 3 3 / 4 8 - G 0 1 N 3 3 / 9 8